

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE DE RECHERCHE PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCE DE L'ENVIRONNEMENT

PAR  
LISA-MARIE LANTEIGNE ROCH

UTILISATION DES ENZYMES LIPASE ET LACCASE POUR AMÉLIORER LA  
BLANCHEUR D'UNE PÂTE DÉSENCRÉE DE PAPIER JOURNAL

AVRIL 2010

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

## REMERCIEMENTS

Tout d'abord, j'aimerais remercier mon directeur de maîtrise, le professeur Claude Daneault pour son support essentiel et son expérience. Je souhaite remercier également ma co-directrice, Mme Céline Leduc pour son orientation au cours du projet, de sa patience et de ses compétences au laboratoire.

J'aimerais aussi remercier les professeurs Jacques Boisvert et Bruno Chabot pour avoir été sur mon comité d'évaluation. Je remercie tous mes collègues du Centre intégré en pâtes et papiers. Mais, plus particulièrement, Joannie Martel, Nancy Nakich et Maxime Veillette pour leur aide importante au laboratoire qui a fait avancer les travaux. Merci également à l'aide apportée par Ceren Ozcan durant son stage. De plus, ce projet n'aurait pu être réalisé sans le soutien financier de la Chaire de recherche du Canada sur la fabrication de papiers à valeur ajoutée et à la compagnie Innu Science pour son expertise enzymatique et la fourniture de lipase.

Un gros merci spécial à ma famille qui m'a fait confiance, encouragée et soutenue ainsi qu'à mes amis pour leur compréhension.

## RÉSUMÉ

Afin de répondre aux politiques et aux demandes des consommateurs, le recyclage des papiers journaux est un moyen de réduire la consommation en fibres vierges dans l'industrie papetière. L'utilisation des enzymes lipase et laccase pour augmenter les propriétés optiques du papier et réduire l'utilisation de produits chimiques est une alternative intéressante. Le détachement des contaminants et des particules d'encre et les modifications chimiques effectuées par ces enzymes permettent d'augmenter la blancheur et de diminuer l'encre résiduelle. L'action de la lipase s'effectue sur les composés liposolubles. L'hydrolyse des véhicules d'encre à base d'huile végétale par l'enzyme va permettre aux particules d'encre d'être détachées de la fibre. Dans le cas de la laccase, elle agit sur les composés phénoliques lorsqu'elle est utilisée seule ou si elle est couplée avec un médiateur. Le système laccase-médiateur (LMS) agit également sur les composés non phénoliques. Notre hypothèse est que la laccase permettra de détacher les particules d'encre qui sont accrochées sur la lignine.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité de désencrage des lipases et laccases individuellement et en combinaison. Pour ce faire, nous avons déterminé les optimums de pH et de concentrations enzymatiques qui favorise un maximum de gain de blancheur et une plus grande diminution d'encre résiduelle pour la lipase et la laccase individuellement, ainsi que pour le LMS et la combinaison de la lipase avec le LMS. Les conditions qui ont été utilisées devaient représenter ce qui est fait dans l'industrie. Nous avons vérifié également si l'ajout d'un tensioactif permet d'améliorer davantage les propriétés optiques.

La méthodologie utilisée se subdivise en trois étapes : le traitement enzymatique, la flottation et le blanchiment au peroxyde d'hydrogène. Lors de l'optimisation des

conditions enzymatiques, le pH, la concentration des enzymes, la concentration du médiateur pour la laccase et la concentration des tensioactifs ont été variées dans le traitement enzymatique. Ces traitements ont été effectués à 50°C pendant 180 minutes. Par la suite, l'étape de flottation a permis de retirer l'encre qui a été décrochée dans l'étape précédente. La flottation a été effectuée pendant cinq minutes à un pH de 9, à une température de 50°C, à une consistance de 0,55% avec un ajout de 0,3% d'acide oléique et 200 ppm de chlorure de calcium. Le blanchiment au peroxyde d'hydrogène a été effectué avec 2,36% d'hydroxyde de sodium, 3,00% de peroxyde d'hydrogène, 3,00% de silicate de sodium à une température de 70°C pendant 180 minutes.

Les conditions optimales de la lipase que nous avons déterminées sont 10 UI/g de pâte sèche de lipase, sans ajustement du pH de la pâte. Avec ces conditions, les propriétés optiques ont été améliorées de 1,0 % ISO et de 20 ppm d'encre résiduelle comparativement à la référence de chaque essai. Avec l'ajout de 0,01 % du tensioactif Deteric ODP-LF, l'amélioration de blancheur par rapport à la référence a été augmentée de 1,9 % ISO et de 0,7% par rapport à l'ajout de lipase seule et la concentration d'encre résiduelle effective de 19 ppm. Les conditions optimales de la laccase déterminées ont été de 5 UI/g de laccase, sans ajustement de pH avec 0,5% de médiateur. Cependant avec le système laccase-médiateur de très faibles gains ont été obtenus et l'ajout de tensioactif n'a démontré aucun gain supplémentaire. De plus, la combinaison de la lipase et du LMS nous a permis de conclure qu'il n'existe pas de synergisme entre les deux enzymes. Ces résultats démontrent que l'utilisation de ces enzymes sous ses conditions, ne peut être envisagée dans l'industrie papetière et qu'il est nécessaire de poursuivre la recherche sur l'utilisation d'enzymes dans le désencrage.

### **Mots Clés**

Lipase, laccase, désencrage, enzyme, pâte désencrée, bioblanchiment.

# TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	ii
RÉSUMÉ .....	iii
LISTE DES TABLEAUX .....	ix
LISTE DES FIGURES .....	x
LISTE DES ÉQUATIONS .....	xiv
LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS .....	xv
CHAPITRE 1 INTRODUCTION .....	1
1.1    Problématique .....	2
1.2    Projet de recherche .....	3
1.3    Objectifs .....	4
CHAPITRE 2 LE DÉSENCRAGE CONVENTIONNEL .....	6
2.1    Étapes du procédé .....	7
2.1.1    La trituration .....	7
2.1.2    Le tamisage et l'épuration .....	7
2.1.3    Le lavage .....	8
2.1.4    La flottation .....	8
2.1.5    Le blanchiment .....	11
2.2    Chimie du désencrage .....	13
2.2.1    Le noircissement alcalin .....	13
2.2.2    Les tensioactifs .....	13
2.3    Types d'encre et inconvénients du désencrage .....	14
2.3.1    Types d'encre .....	14
2.3.2    Hypothèse du décrochage de l'encre .....	16

2.4	Fractionnement de l'encre.....	17
CHAPITRE 3 LE DÉSENCRAGE ENZYMATIQUE .....		18
3.1	Généralités des enzymes .....	19
3.1.1	Nomenclature.....	19
3.1.2	Réactions enzymatiques.....	21
3.1.3	Conditions d'applications .....	21
3.2	Les enzymes.....	22
3.2.1	La cellulase .....	22
3.2.2	La xylanase .....	26
3.2.3	La lipase.....	28
3.2.4	La laccase.....	29
3.3	Le désencrage enzymatique .....	31
3.3.1	Désencrage avec des cellulases.....	32
3.3.2	Désencrage avec des hémicellulases.....	33
3.3.3	Désencrage avec des lipases .....	34
3.3.4	Désencrage avec le système laccase-médiateur .....	35
3.3.5	Désencrage avec une combinaison d'enzymes .....	35
CHAPITRE 4 MÉTHODOLOGIE .....		37
4.1	Objectifs du projet .....	37
4.2	Pâte utilisée .....	37
4.3	Activité enzymatique de la lipase .....	37
4.4	Activité enzymatique de la laccase .....	38
4.4.1	Détermination de l'activité enzymatique de la laccase.....	38
4.4.2	Détermination de l'activité enzymatique de la laccase en fonction de la température .....	40
4.4.3	Détermination de l'activité enzymatique de la laccase en fonction du pH .....	41
4.5	Méthode .....	41
4.5.1	Prétraitement au DTPA.....	41
4.5.2	Traitement enzymatique .....	42
4.5.3	Flottation.....	43

4.5.4	Blanchiment au peroxyde d'hydrogène .....	43
4.6	Analyse des pâtes .....	44
4.6.1	Formation des feuilles.....	44
4.6.2	Détermination de la blancheur ISO .....	44
4.6.3	Détermination de la concentration d'encre résiduelle .....	45
CHAPITRE 5 OPTIMISATION DE LA LIPASE .....		46
5.1	Activité enzymatique .....	46
5.2	Comparaison des témoins et références .....	47
5.3	Optimisation des conditions de la lipase.....	49
5.3.1	Effet du pH .....	49
5.3.2	Sans ajustement de pH.....	54
5.4	Effet de la concentration de lipase .....	56
5.4.1	Variation des concentrations de lipase.....	56
5.4.2	Concentrations excessives de lipase .....	57
5.5	Conditions préconisées .....	58
5.6	Effet de l'ajout de tensioactifs .....	59
5.6.1	Choix de l'étape d'ajout du tensioactif.....	59
5.6.2	Variation de la concentration des tensioactifs .....	62
5.6.3	Choix d'un tensioactif .....	69
5.7	Conclusion .....	69
CHAPITRE 6 OPTIMISATION DU LMS .....		71
6.1	Activité enzymatique de la laccase .....	71
6.1.1	Détermination de l'activité enzymatique de la laccase.....	71
6.1.2	Détermination de l'activité enzymatique en fonction de la température .....	71
6.1.3	Détermination de l'activité enzymatique de la laccase en fonction du pH .....	72
6.2	Effet de la concentration de la laccase .....	72
6.3	Effet de la concentration du médiateur .....	77
6.4	Effet du pH.....	80
6.5	Effet de l'ajout de tensioactifs .....	81



6.5.1	Variation des tensioactifs.....	81
6.5.2	Variation de la concentration des tensioactifs .....	83
6.6	Conditions préconisées .....	87
6.7	Conclusion .....	87
CHAPITRE 7 COMBINAISON DE LA LIPASE ET DU LMS .....		88
7.1	Effet de la combinaison de la lipase et du LMS .....	88
7.2	Effet de la combinaison de la lipase, du LMS et d'un tensioactif .....	90
7.3	Conclusion .....	90
CHAPITRE 8 CONCLUSION.....		91
BIBLIOGRAPHIE .....		93

## LISTE DES TABLEAUX

Tableaux		Page
2.1	Paramètres de la trituration .....	16
3.1	Types d'affinités possibles pour les enzymes .....	20
3.2	Classification des types de catalyse des enzymes .....	21
4.1	Volume des réactifs contenus dans les cellules du spectrophotomètre pour le blanc de l'échantillon.....	39
5.1	Étapes du procédé présentes dans les références et les témoins.....	48
5.2	Propriétés optiques des références et témoins de trois pâtes.....	48
6.1	Activité enzymatique de la laccase obtenue pour trois essais.....	71
6.2	Variation des blancheurs et des ERIC pour l'ajout de 5 UI/g de laccase et de laccase et 0,5% de médiateur pour différents pH.....	81

## LISTE DES FIGURES

Figures		Page
2.1	Schéma du désencrage conventionnel.....	6
2.2	Schéma du mécanisme d'accrochage de l'encre aux bulles d'air.....	10
2.3	Schéma du mécanisme de décrochage de l'encre.....	17
3.1	Vu tridimensionnelle de la laccase de <i>M. Albomyces</i> et de ces trois sites de Cu.....	21
3.2	Réaction d'hydrolyse des liens osidiques par une cellulase.....	23
3.3	Synergie des composantes hydrolytiques de la cellulase.....	24
3.4	Schéma du mécanisme d'action de l'endu glucanase de la cellulase.....	25
3.5	Structure d'un xylane montrant différents groupes de substitution et les sites d'attaques des xylanases.....	27
3.6	Mécanisme d'action de la lipase sur les triglycérides.....	29
3.7	Mécanisme d'oxydation du LMS sur la lignine.....	30
5.1	Activité relative de la lipase en fonction de la température (Innuscience).....	47
5.2	Activité relative de la lipase en fonction du pH (Innuscience).....	49
5.3	Blancheur en fonction de la concentration de lipase (pH ajusté à 10)....	51
5.4	ERIC en fonction de la concentration de lipase (pH ajusté à 10).....	51
5.5	Blancheur en fonction de la concentration de lipase (pH ajusté à 9).....	52
5.6	ERIC en fonction de la concentration de lipase (pH ajusté à 9).....	53
5.7	Blancheur en fonction de la concentration de lipase (pH ajusté à 8,5)...	53
5.8	ERIC en fonction de la concentration de lipase (pH ajusté à 8,5).....	54
5.9	Blancheur en fonction de la concentration de lipase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,2).....	55

5.10	ERIC en fonction de la concentration de lipase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,2).....	56
5.11	Blancheur en fonction de concentration excessive de lipase (pH ajusté à 8,5).....	57
5.12	ERIC en fonction de concentration excessive de lipase (pH ajusté à 8,5).....	58
5.13	Blancheur en fonction de l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810B et de Ninol CC dans les traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5).....	60
5.14	ERIC en fonction de l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810B et de Ninol CC dans les traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5).....	60
5.15	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810B et de Ninol CC dans la flottation suite à différents traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5).....	61
5.16	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810B et de Ninol CC dans la flottation suite à différents traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5).....	62
5.17	Blancheurs obtenues suite à l'ajout d'Amphosol 810B dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1).....	63
5.18	ERIC obtenus suite à l'ajout d'Amphosol 810B dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1).....	63
5.19	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de Ninol CC dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1).....	64
5.20	ERIC obtenus suite à l'ajout de Ninol CC dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1).....	65
5.21	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,015% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte :6,2).....	66
5.22	ERIC obtenues suite à l'ajout de 0,015% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte :6,2).....	66
5.23	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,01% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte :6,2).....	67
5.24	ERIC obtenues suite à l'ajout de 0,01% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte :6,2).....	67
5.25	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,005% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte :6,2).....	68
5.26	ERIC obtenues suite à l'ajout de 0,005% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte :6,2).....	68
6.1	Activité enzymatique relative de la laccase en fonction de la température .....	72

6.2	Activité enzymatique relative de la laccase en fonction du pH .....	73
6.3	Blancheur en fonction de la concentration de laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,5).....	73
6.4	ERIC en fonction de la concentration de laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,5).....	74
6.5	Blancheur en fonction de la concentration de laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0).....	75
6.6	ERIC en fonction de la concentration de laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0).....	75
6.7	Blancheur en fonction de la concentration de laccase avec ajustement de pH à 7,5 (pH de la pâte initiale : 6,2).....	76
6.8	ERIC en fonction de la concentration de laccase avec ajustement de pH à 7,5 (pH de la pâte initiale : 6,2).....	76
6.9	Blancheur en fonction de la concentration du médiateur avec la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0).....	78
6.10	ERIC en fonction de la concentration du médiateur avec la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0).....	79
6.11	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 5 UI/g de laccase et de deux concentrations de médiateur sur une pâte à pH 6,2.....	79
6.12	ERIC obtenues suite à l'ajout de 5 UI/g de laccase et de deux concentrations de médiateur sur une pâte à pH 6,2.....	80
6.13	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,015% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5 UI/g au LMS (pH de la pâ- te :6,2).....	82
6.14	ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,015% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5 UI/g au LMS (pH de la pâ- te :6,2).....	82
6.15	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,01% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5 UI/g au LMS (pH de la pâ- te :6,2).....	84
6.16	ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,01% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5 UI/g au LMS (pH de la pâ- te :6,2).....	84
6.17	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,005% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5 UI/g au LMS (pH de la pâ- te :6,2).....	85

6.18	ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,005% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5 UI/g au LMS (pH de la pâte :6,2).....	85
6.19	Blancheurs obtenues suite à l'ajout de différentes concentrations de tensioactifs au LMS sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2.....	86
6.20	ERIC obtenus suite à l'ajout de différentes concentrations de tensioactifs au LMS sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2.....	86
7.1	Blancheurs obtenues par l'ajout de lipase et de LMS indépendamment, en combinaison et avec des tensioactifs sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2.....	88
7.2	Blancheurs obtenues par l'ajout de lipase et de LMS indépendamment, en combinaison et avec des tensioactifs sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2.....	89

## LISTE DES ÉQUATIONS



$$\frac{m \times f_{\text{dilution}}}{\Delta A_{\text{unité}} \times V_{\text{enzyme}}} = a_{\text{laccase}} \quad [4.2] \dots\dots\dots 40$$

## LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

840	Berol 840
$\mu\text{L}$	microlitre
ABTS	2,2'-anizobis-(-3-éthyl-benzothiazoline-6-sulfonate)
ACS	American chemical society
Amp	Amphosol 810B
ATCPP	Association technique canadienne des pâtes et papiers
ATP	adénosine triphosphate
DTPA	diéthylènetriaminepentaacétate de sodium
ERIC	concentration effective d'encre résiduelle
ES	complexe enzyme-substrat
F	Flottaion
g	gramme
$\text{H}_2\text{O}_2$	peroxyde d'hydrogène
HBT	1-hydroxybenzotrizole
L	litre
LMS	système laccase-médiateur
M	mole par litre
mg	milligramme
mL	millilitre
mM	milli-mole par litre
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$	hydrosulfite de sodium
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$	metabisulfite de sodium
$\text{Na}_2\text{SiO}_3$	silicate de sodium
$\text{Na}_2\text{SO}_3$	sulfite de sodium
NaOH	hydroxyde de sodium
Ninol	Ninol CC
nm	nanomètre



ODP	Deteric ODP-LF
P	Blanchiment au peroxyde d'hydrogène
pNp	<i>para</i> - nitrophénol
pNPP	<i>para</i> - nitrophényle
ppm	partie par million
TAPPI	Technical Association Pulp and Paper Industry
TE	Traitement enzymatique
U/mL	unité par millilitre
U/mg	unité d'enzyme par milligramme
UI/g	unité international d'enzyme par gramme
UV-IR	ultraviolet-infra rouge
VA	acide violuric
VPJ	vieux papiers journaux
VPM	vieux papiers magazine

# **CHAPITRE 1**

## **INTRODUCTION**

L'industrie québécoise des pâtes et papiers a vécu une crise importante et est présentement en cours de redressement. La diminution de la disponibilité des fibres, l'augmentation des coûts de la fibre vierge et la force du dollar canadien causent des problèmes importants dans cette industrie. En effet, suite aux restructurations et à la fermeture de plusieurs usines dans les dernières années, l'industrie est à la recherche d'opportunités et de solutions innovatrices qui permettront de sortir de cette situation difficile. Une des solutions pour palier au problème de la ressource fibreuse est d'accentuer le recyclage des vieux papiers et d'utiliser cette fibre recyclée dans la production des papiers conventionnels, mais aussi de papier à valeur ajoutée. La consommation de papier recyclable par les usines canadiennes est en constante augmentation, notamment par l'exigence de pourcentage minimal de fibres recyclées dans les produits achetés par certains clients américain et canadien. De plus, les demandes des clients sont exigeantes pour les blancheurs de leur produit, mais les industries sont limitées dans leur augmentation d'utilisation de produits blanchissant à cause des normes environnementales à respecter et du coût que cela représente. D'ailleurs, l'une des composantes importantes de toute cette industrie est de dégager des bénéfices, alors les coûts de production doivent être le plus économiques possible.

Le recyclage des vieux papiers est maintenant une habitude de la vie quotidienne dans presque tous les foyers. La popularité du recyclage s'est développée suite à des pressions environnementales et sociales. Le rapport Coulombe (Coulombe, 2005) sur la gestion des forêts québécoises a certainement contribué à ces pressions, de plus, les coûts d'enfouissement élevés, la sauvegarde des forêts et la réglementation américaine ont contribué à l'augmentation de l'utilisation de la fibre recyclée. De même, la quantité de fibre recyclée qui doit être ajoutée dans les types de papiers est réglementée, les

fabricants doivent non seulement respecter ces règles, mais aussi remplir les exigences de leurs clients, qui sont de plus en plus « verts ». Afin de satisfaire toutes ces exigences, le Québec doit importer des États-Unis le vieux papier nécessaire. Toutefois, la concurrence de l'Europe et surtout de l'Asie car elle offre une capacité de production à grande échelle et à faible coût.

La fibre secondaire nécessite un traitement de désencrage afin que la qualité obtenue puisse concurrencer celle de la fibre vierge. La qualité de cette fibre est en amélioration graduelle et plusieurs projets de recherche ont pour but l'amélioration des propriétés de la pâte recyclée (Galland, 2006). L'idée générale du désencrage est d'enlever l'encre et les saletés contenues dans les papiers par une combinaison d'étapes afin de produire une pâte propre, exempte d'encre et généralement d'un niveau de blancheur plus élevé.

## **1.1 Problématique**

Au Canada, le recyclage des vieux papiers et cartons comprend seulement 40 à 50 % des papiers recyclables, cependant, ces chiffres sont en constante augmentation. La pâte recyclée sert principalement à fabriquer des papiers tissus, des cartons et du papier journal. Les usines fabriquant du papier journal utilise généralement un mélange de pâte recyclée qui comprend de vieux papiers journaux (VPJ) et de vieux papiers magazines (VPM), le pourcentage de ces derniers est variable, mais se situe aux environs de 80 % et 20 % respectivement pour les journaux et les magazines.

Dans le procédé de désencrage, plusieurs étapes séquentielles vont produire une pâte nommée pâte désencrée. L'une des étapes la plus importante est la trituration, c'est à cette étape que le décrochage de l'encre des fibres s'effectue. Si l'encre est bien décrochée des fibres, il sera plus facile de l'éliminer dans les étapes ultérieures. Suite à la trituration, l'étape où la majorité des contaminants sont éliminés de la solution aqueuse est la flottation. Par contre, cette technique n'est pas parfaite, la pâte contient

toujours de l'encre résiduelle et les niveaux de blancheur de la pâte désencrée n'atteignent pas celui de la pâte vierge. Depuis les années 80, il s'est amorcé un virage écologique et les produits post-consommation sont maintenant davantage récupérés. Par contre, cette récupération a augmenté le taux de contaminants entrant dans les usines de désencrage. Afin d'éliminer tous ces types de contaminants, les technologies et équipements sont en constante amélioration par souci de la qualité, mais aussi de l'environnement. Notamment, par la fermeture des circuits d'eau blanche, la réutilisation de cette eau durant le processus de désencrage et le traitement de cette dernière sont de nouvelles avenues moins polluantes pour la pâte recyclée.

De nos jours, les cellulases sont utilisées dans le désencrage de papiers journaux et les xylanases dans la production de pâte chimique (Welt, 1994). Plusieurs autres enzymes sont également utilisées dans les procédés papetiers (Widsten et Kandelbauer, 2008). De nouvelles voies en matière de désencrage sont encore à explorer.

## **1.2 Projet de recherche**

Au cours de la dernière décennie, plusieurs chercheurs se sont intéressés aux enzymes dans l'industrie papetière, notamment, dans la mise en pâte surtout des pâtes chimiques, dans le désencrage, dans le blanchiment et dans le traitement des eaux de procédés et des eaux usées. Les enzymes utilisées pour le désencrage sont les cellulases, les xylanases et plus récemment les lipases (Morkbak, 1998). Au cours des dernières années, l'utilisation de laccases dans la mise en pâte ou le blanchiment des pâtes kraft s'est avérée efficace selon certaines études. (Balakshin et al., 2001; Camarero et al., 2007) L'utilisation de laccases dans le désencrage de papiers journaux se trouve présentement dans la mire des chercheurs (Xu et al., 2009).

Dans le cas de ce projet de recherche, l'approche préconisée consiste à améliorer la blancheur d'une pâte commerciale désencrée avec l'utilisation des enzymes lipase et laccase. Les expériences se sont déroulées en trois étapes : le traitement enzymatique, la flottation et le blanchiment. Nos travaux se sont situés au niveau de l'étape du traitement enzymatique, car les étapes de flottation et de blanchiment ont été constantes pour toute la durée de l'étude. Notre hypothèse de départ est que l'action des enzymes permet de décrocher l'encre des fibres pour ensuite la retirer par la flottation. Par conséquent, le décrochage substantiel de l'encre devrait nous permettre d'augmenter l'efficacité du blanchiment puisque le contenu en encre aura diminué. L'utilisation de la lipase vise à décrocher l'encre en hydrolysant les triglycérides des véhicules d'encre tandis que la laccase vise à décrocher l'encre accrochée sur la lignine par une oxydation.

La pâte utilisée a été fournie par l'usine Kruger située à Bromptonville, la lipase a été fournie par la compagnie Innu Science et la laccase provenait de chez Sigma Aldrich. Dans un premier temps, nous avons optimisé les conditions de pH et la concentration de chacune des enzymes individuellement afin d'obtenir la meilleure amélioration du niveau de blancheur et diminution de l'encre résiduelle. Pour la laccase, nous avons également ajouté un médiateur pour former un LMS et optimiser sa concentration de ce médiateur. Dans un deuxième temps, nous avons ajouté des tensioactifs pour favoriser l'action des enzymes. En dernier lieu, nous avons combiné les enzymes lipases et le LMS et ensuite, nous y avons ajouté un tensioactif.

### **1.3 Objectifs**

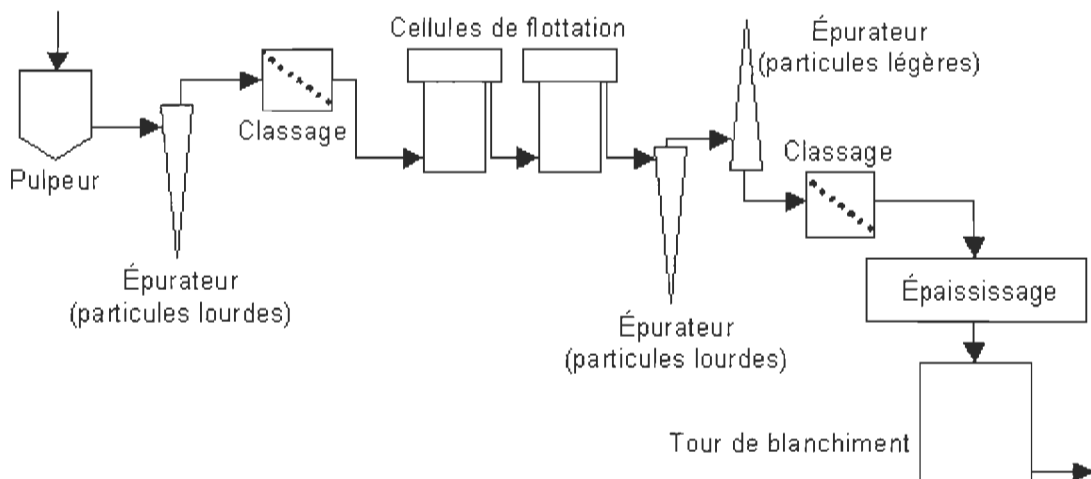
L'objectif principal de ce projet est d'obtenir des gains au niveau de la blancheur de la pâte commerciale et une diminution de la concentration effective d'encre résiduelle (ERIC) par une optimisation des conditions d'applications de chacune des enzymes. De plus, les conditions d'utilisation des enzymes doivent être applicables en industrie. Par la suite, nous avons vérifié l'action des tensioactifs avec la lipase et la laccase. Finalement,

nous avons évalué s'il existe un synergisme entre la lipase et le système laccase-médiateur, ce qui à ce jour n'avait pas encore été expérimenté.

## CHAPITRE 2

### LE DÉSENCRAGE CONVENTIONNEL

Le procédé de désencrage comprend généralement six étapes : la remise en pâte, le tamisage, l'épuration, le lavage ou la flottation, la dispersion et le blanchiment tel que présenté dans la figure 2.1. L'industrie papetière utilise deux techniques pour retirer l'encre et les contaminants des fibres du papier, il s'agit du lavage et de la flottation. La flottation est la technique la plus utilisée dans le monde à ce jour.



**FIGURE 2.1: Schéma du désencrage conventionnel**

Généralement, le procédé de désencrage s'effectue à pH alcalin, cependant depuis quelques années, quelques compagnies se sont tournées vers le désencrage au sulfite neutre. La première application industrielle du désencrage au sulfite neutre a été réalisée en 2004 par la collaboration de Paprican, Bowater et EKA chemicals. La majeure distinction entre les deux procédés se situe au niveau des pH lors de l'étape de trituration où l'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) a été remplacé par du sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) et permet d'éviter d'ajouter du silicate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) et du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Ce procédé permet la réduction des coûts de fabrication en réduisant la quantité

d'agents chimiques pour le désencrage et diminue la charge environnementale du procédé, tout en gardant les propriétés optiques semblables et augmentant légèrement les propriétés physiques (Taylor, 2004).

Ce procédé permet d'éliminer un stage de blanchiment. Cependant, l'enlèvement des résidus d'encre visible est moins efficace que le désencrage conventionnel et requière une étape supplémentaire de désencrage tel qu'un traitement enzymatique (Moerkbak, 1998).

## **2.1 Étapes du procédé**

### **2.1.1 La trituration**

L'étape de mise en pâte des vieux papiers est la trituration, elle consiste à mettre les papiers dans une solution aqueuse avec de l'agitation afin de désintégrer ces papiers pour en faire une suspension de fibres. À cette étape, de l'hydroxyde sodium, du peroxyde d'hydrogène, de l'acide oléique et un agent stabilisateur sont ajoutés dans la suspension. Le pH de ce milieu est de 10 ou supérieur et la température se situe à environ 40 °C. Dans le tritrateur, un mouvement induit par un rotor va entraîner une friction entre les fibres pour obtenir une désintégration presque complète. La pâte résultante peut être plus ou moins diluée selon le type d'équipements ou le procédé de l'usine. Suite à l'étape de trituration, on retrouve un mélange de fibres, d'encre et de contaminants de façon hétérogène en solution.

### **2.1.2 Le tamisage et l'épuration**

Les étapes suivant la trituration servent à nettoyer la pâte. On retrouve notamment le tamisage, l'épuration et la flottation ou le lavage. Le tamisage ou classage consiste à faire passer la pâte à travers une série de tamis pressurisés afin d'en retirer mécaniquement un maximum de contaminants. Ces tamis peuvent être de différents



types selon la grosseur et la forme des trous, cela permet d'éliminer des contaminants de différentes natures et diamètres.

Le nettoyage de la pâte s'effectue avec des épurateurs tourbillonnaires. Ces équipements sont également disposés en série dans les usines de désencrage. L'épuration sépare les contaminants des fibres selon la densité sous l'action de la force centrifuge. Dans le cas des épurateurs réguliers, les matières plus légères que les fibres se dirigeront dans les rejets. Il existe également des épurateurs à hautes densités, qui retirent les contaminants plus lourds ainsi que des épurateurs inversés qui éliminent les contaminants de très faibles densités par rapport aux fibres.

### **2.1.3 Le lavage**

Comme mentionné précédemment, la flottation est le procédé le plus répandu pour nettoyer la pâte. Par contre, le procédé de lavage est aussi utilisé à l'occasion. Ce procédé est majoritairement utilisé dans les usines de production de papiers tissus. Le lavage consiste à diluer la pâte et ses contaminants à très basse consistance pour en retirer l'eau. Par la suite, les contaminants sont alors éliminés avec celle-ci. L'eau utilisée lors du lavage doit être sensiblement propre, donc l'utilisation d'eau grise trop contaminée n'est pas recommandée. L'un des inconvénients de ce procédé est l'utilisation d'une grande quantité d'eau. Le lavage est très efficace pour retirer les contaminants de très petite taille (inférieur à  $20\mu\text{m}$ ), les argiles et les glaises (cendres) (Lévesque, 1999). Aussi, le lavage peut servir à épaissir la pâte, notamment avant l'étape de blanchiment.

### **2.1.4 La flottation**

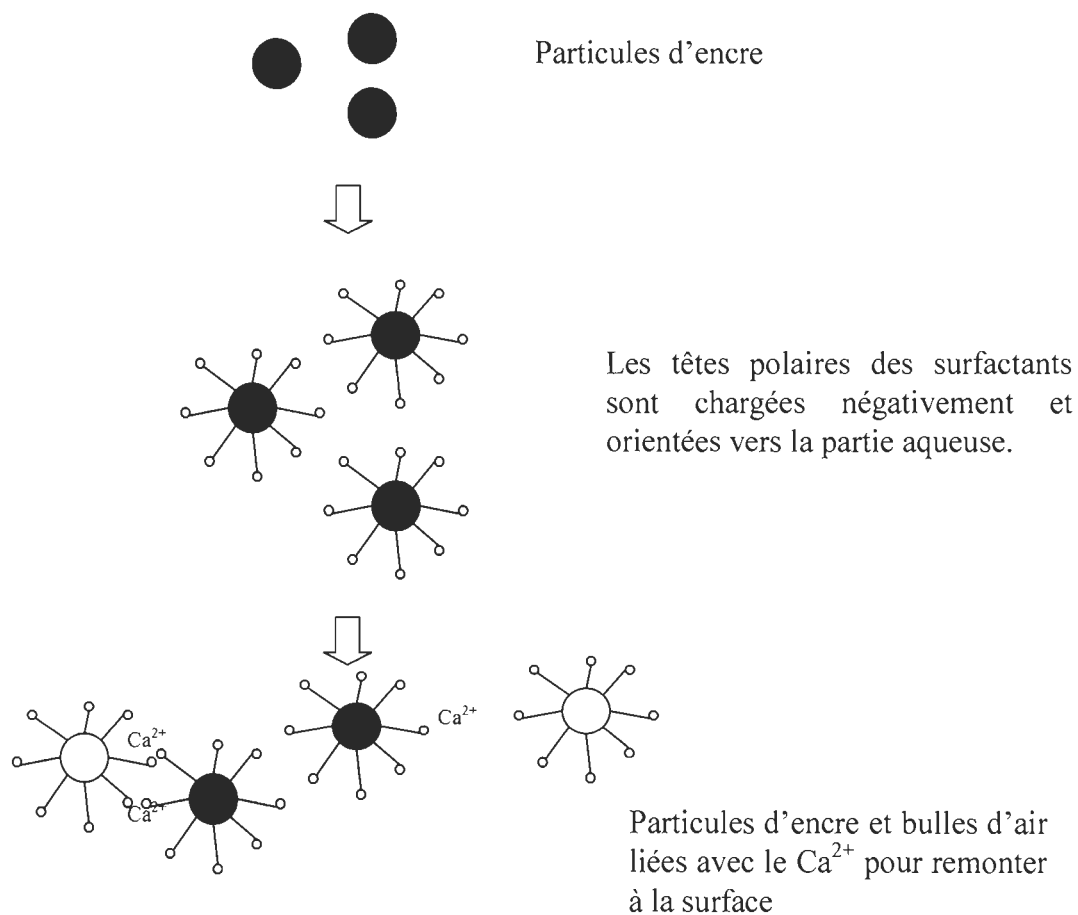
La flottation est la principale étape du procédé qui permet d'obtenir une pâte exempte de contaminants. L'équipement utilisé est une cellule de flottation. Le principe général de la flottation est l'insufflation de petites bulles d'air dans la pâte à une consistance très

faible, c'est-à-dire entre 0,8 et 1% afin que les bulles s'accrochent aux contaminants et remontent à la surface en formant une mousse. La flottation implique des tensioactifs ou surfactants qui agissent comme collecteur d'encre et produisent de la mousse. Cette dernière sera éliminée sous forme de rejet afin de récolter de la pâte relativement propre. La flottation peut retirer des particules de 10 à 100  $\mu\text{m}$  de la pâte, mais elle est plus efficace pour les tailles de 30 à 80  $\mu\text{m}$  (Borchardt, 1997).

Plusieurs variables doivent être prises en compte durant ce procédé, notamment, la concentration de la pâte, le débit d'air, les pressions de fonctionnement, le débit de la pâte, la température, le type de vieux papiers, la remise en circulation des eaux grises dans le procédé et les paramètres chimiques. Le principe de la flottation repose sur les propriétés de surface ou la chimie de surface, c'est-à-dire, les propriétés hydrophobes, hydrophiles et les attractions et répulsions entre les charges des particules. Les tensioactifs utilisés dans la flottation servent à abaisser la tension de surface de l'eau, réduisent l'interaction entre les fibres et l'encre et facilitent le mouillage des fibres. Ils sont généralement de nature non ionique, nous en discuterons plus en détails dans la section 2.2.2. Les tensioactifs non ioniques sont composés d'un groupement osidique hydrophile et d'une chaîne grasse hydrophobe. L'enlèvement de l'encre avec le tensioactif dans la cellule de flottation est complexe. Tout d'abord, les particules d'encre présentes dans la pâte sont de nature hydrophobe. Lors de l'adsorption du tensioactif sur une particule d'encre, la tête polaire du tensioactif va s'orienter vers la solution aqueuse et la tête polaire va s'accrocher aux particules. Plusieurs autres molécules d'acide gras vont faire la même chose sur la même particule, et une micelle sera formée. La même chose se produit aussi sur les bulles d'air hydrophobes. L'accrochage de la micelle de la particule d'encre à la bulle d'air est réalisable avec les ions  $\text{Ca}^{2+}$  présent dans la solution qui servent d'agent de pontage entre les deux. Ces agrégats vont monter vers la surface grâce à la bulle d'air et se retrouver dans la mousse qui sera éliminée. La figure 2.2 démontre le processus d'attraction des particules d'encres aux bulles d'air avec l'aide du savon de calcium (Lévesque, 1999).

Normalement, comme les fibres sont hydrophiles, elles ne sont pas entraînées dans la mousse. Cependant, des fines et des charges peuvent rester trappées dans la mousse. Un deuxième stage de flottation va permettre à certaines de ces fibres de retourner dans la pâte acceptée, ce qui permet un meilleur rendement.

Généralement, trois étapes suivent la flottation : l'épaississement, le raffinage et le blanchiment. Ces trois étapes sont différentes selon les usines.



**FIGURE 2.2: Schéma du mécanisme d'accrochage de l'encre aux bulles d'air**

### 2.1.5 Le blanchiment

Selon la demande des clients, le papier doit toujours être d'une blancheur élevée et coûter le moins cher possible. Les industriels cherchent à dépasser le plus possible une blancheur de 60 %ISO. Afin d'obtenir les standards demandés, la pâte doit subir une étape de blanchiment. Généralement, les pâtes désencrées sont blanchies par réduction avec de l'hydrosulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) ou par oxydation avec du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Pour les blanchiments réducteurs avec l'hydrosulfite de sodium, les groupements carbonyles sont réduits en groupements alcool alors que le blanchiment au peroxyde est de type oxydant et la réaction produit le changement des carbonyles des groupements chromophores en groupement acide carboxylique.

La couleur perçue par notre œil sur un papier provient des groupements chromophores de la lignine. Ces derniers sont des groupements fonctionnels principaux tels que les quinones, carbonyles, noyaux phénoliques, doubles liaisons éthyléniques, ou toutes les combinaisons possibles de ces groupements. Ces groupements peuvent également se retrouver dans les matières extractibles. C'est l'absorption de lumière par la structure de ces groupements qui provoque la couleur (Phan, 2004).

Le blanchiment est effectué dans une tour de blanchiment et a pour but de modifier ou de détruire les groupements chromophores de la lignine et des matières extractibles. Suite à ces modifications, la lignine et les matières extractibles ne sont pas enlevées de la suspension de pâte et permettent de garder un rendement élevé.

Le peroxyde d'hydrogène est un agent oxydant puissant. Ce sont les anions perhydroxyles formés qui permettent la réaction de blanchiment.

En solution aqueuse, il forme un acide faible :



En milieu, alcalin, il forme l'anion perhydroxyle :



Le blanchiment se déroule à des pH variant entre 10 et 11,5, car les ions hydrogènes ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) sont supprimés et la concentration de l'anion perhydroxyle ( $\text{OOH}^-$ ) augmente en milieu alcalin. L'anion perhydroxyle est l'agent actif de blanchiment. Cet ion oxyde les groupements chromophores de la lignine situés sur les chaînes latérales, ce qui provoque la diminution de possibilités de conjugaison pouvant former de la couleur et donc augmenter la blancheur de la pâte. Afin de contrer une diminution trop rapide du pH, le silicate de sodium est ajouté à cette étape pour servir de tampon (Ye, 2004).

En présence d'ions métalliques dans une solution alcaline, le peroxyde peut être décomposé. Ces ions peuvent provenir de n'importe où dans le procédé de désencrage. Cette réaction est compétitive avec la réaction de blanchiment, il importe d'avoir une étape de chélation précédant le blanchiment afin de capter ces ions métalliques qui nuisent à la blancheur. Un prétraitement avec le DTPA est suffisant pour diminuer le contenu de ces ions dans la pâte. Par contre, d'autres facteurs peuvent influencer la réponse au blanchiment, tels que la température, la consistance, le type de papier, la concentration en encre résiduelle et en contaminants. Après la réaction de blanchiment, une neutralisation des ions perhydroxydes avec le métabisulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) est effectuée pour ramener le pH à 5,5 qui est généralement le pH de formation du papier sur les machines à papier.

## **2.2 Chimie du désencrage**

### **2.2.1 Le noircissement alcalin**

L'ajout de NaOH est essentiel à la chimie du désencrage, car il provoque un gonflement des fibres et leur permet d'être plus flexibles lorsque le pH est élevé. Le diamètre des fibres peut aller jusqu'à doubler et cela aide la friction entre les fibres. Le NaOH permet la désintégration du papier en formant des liens hydrogène entre les fibres et les fibrilles. Aussi, il permet l'hydrolyse des liens esters des véhicules d'encre en un acide organique et un alcool, ce processus est appelé la saponification. Cependant, l'augmentation du pH tend à faire jaunir la lignine des pâtes mécaniques, notamment pour le papier journal et affecter grandement la blancheur finale, on parle également de noircissement alcalin (Borchardt, 1997).

### **2.2.2 Les tensioactifs**

Un tensioactif peut être utilisé pour différentes propriétés : mouillabilité, abaissement de la tension de surface, dispersion, collecteur, moussant ou non moussant. Les tensioactifs peuvent être utilisés pour promouvoir le détachement de l'encre des fibres de celluloses pendant la mise en pâte et la dispersion. Ils peuvent agir sur la taille, la forme et la densité des particules d'encre, ce qui influence les capacités d'enlèvement des particules. Également, lors de la flottation et du lavage, le tensioactif peut agir sur les propriétés de surfaces des contaminants et sur les propriétés moussantes. Lors de la formation de la feuille, certains tensioactifs agissent comme agent de force humide et d'encollage (Borchardt, 1997). Le terme surfactant peut également être utilisé pour désigner un tensioactif.

La composition chimique d'un tensioactif est faite de deux parties. La première est hydrophobe non polaire, elle est composée d'une chaîne aliphatique lipophile. La deuxième partie est hydrophile, elle est composée d'un ion ou d'un groupement possédant un moment dipolaire qui est appelé la tête polaire (Da Silva, 2004). Il y a

quatre types de tensioactifs de base qui dépendent de la charge électronique sur le groupement hydrophile :

- non ionique : la tête polaire n'a aucune charge électrique,
- anionique : une charge négative sur le groupement hydrophile, ces tensioactifs sont généralement utilisés dans les produits ménagers et sont reconnus pour leur propriété moussante,
- cationique : la tête polaire comporte une charge positive qui forme des liens avec les surfaces minérales, mais sont très peu utilisés dans le désencrage.
- amphotérique : la partie hydrophile comporte autant une charge positive que négative.

## **2.3 Types d'encre et inconvénients du désencrage**

### **2.3.1 Types d'encre**

Lorsqu'il s'agit du désencrage de vieux papier journal, la date de l'impression a un impact sur la facilité à désencrer le papier. Aussi, le désencrage se produit à pH alcalin, ce qui contribue au jaunissement des fibres et affecte négativement les propriétés optiques.

Pour l'impression du papier journal, il existe trois types d'encre : typographiques, lithographiques et flexographiques. Les encres typographiques et flexographiques sont beaucoup moins utilisées que l'impression lithographique, qui est communément nommée « offset ». Les encres typographiques, constituées de pigments et d'huile minérale ou végétale, sèchent par pénétration dans le papier et elles sont facilement décrochées des fibres et éliminées par flottation. L'encre flexographique est aussi constituée à base d'eau et est caractérisée par un système d'encrage gravure avec un cylindre qui tourne dans un bain d'encre (Lévesque, 1999). Par contre, cette encre est difficilement éliminée par flottation, car elle est de nature hydrophile. On retrouve très peu de ce type d'encre en Amérique.

Le procédé offset est beaucoup plus fréquent. Il consiste en une impression sur surface plane et se compose d'un véhicule d'huile minérale ou végétale, de pigments et d'un vernis. Cette impression repose sur le principe que l'eau et l'huile ne se mélangent pas. Cette encre est plus visqueuse et contient plus de pigments que les types précédents. Cependant, l'impression offset nécessite une moins grande quantité d'encre (50 % de moins) et offre une meilleure coloration. Par contre, cette encre polymérise avec le temps, ce qui signifie qu'elle devient plus difficile à décrocher lors du désencrage. Ce sont l'oxygène et les rayons ultraviolets du soleil qui causent cette polymérisation. L'impression offset est aussi utilisée pour l'impression de magazines, de revue, de livres, etc.

Également, pour l'impression des magazines, le type d'encres utilisées peut être les encres héliogravures et les encres et vernis UV-IR (ultraviolet-infra rouge). L'héliogravure est composée de pigments, d'un solvant agissant comme véhicule et d'agents liants. Cette encre sèche rapidement par l'évaporation de solvant avec de la chaleur. Le toluène est souvent utilisé comme solvant, par contre, les environmentalistes font des pressions pour remplacer le toluène par l'eau. L'impression héliogravure permet d'obtenir une impression de grande qualité et elle est très utilisée dans la production de circulaire. L'encre de type UV-IR consiste en un véhicule de nature chimique différente que les autres types d'encre, ce véhicule est généralement composé de monomères, de polymère d'acrylate, de résines modifiées ou d'agents photo-initiateurs. Ce type d'encre est soumis à un séchage au rayonnement ultraviolet et infrarouge, ce qui va former un film acrylique solide.

Elle est difficile à désencrer puisque la soude caustique ne peut l'attaquer pour la fragmenter. Les particules auront un diamètre de 50 à 150  $\mu\text{m}$  et seront difficilement enlevées par la flottation (Lévesque, 1999).



### 2.3.2 Hypothèse du décrochage de l'encre

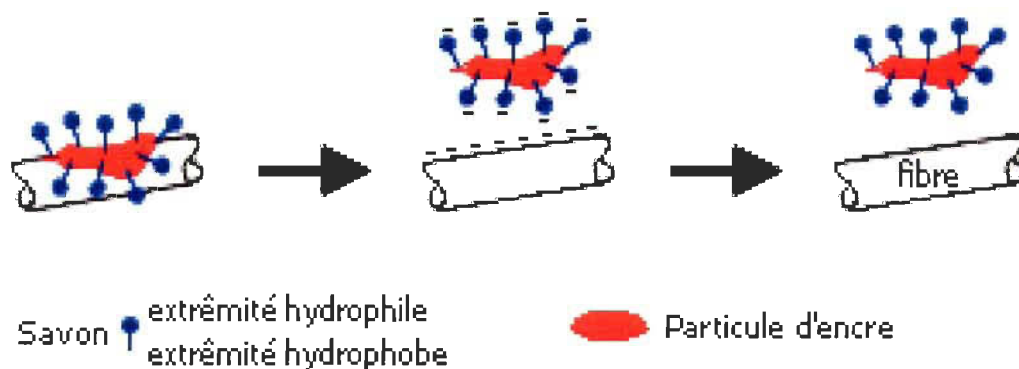
Le décrochage de l'encre s'effectue lors de la première étape, c'est-à-dire lors de la trituration. Lors de ce procédé, afin d'obtenir une individualisation des fibres, l'action mécanique doit être couplée avec des conditions chimiques appropriées et plusieurs paramètres doivent être pris en considération (Tableau 2.1) (Lévesque, 1999).

**TABLEAU 2.1: Paramètres de la trituration**

<b>Paramètres de la trituration</b>	
<b>Action mécanique</b>	Temps Concentration Température Vitesse du rotor
<b>Type de papier</b>	Types de fibres (journal, magazine) Charges Types d'encre
<b>Réactifs chimiques</b>	NaOH Surfactant Agents de désintégration Agents de blanchiment

La trituration s'effectue en milieu alcalin, en y ajoutant de l'hydroxyde de sodium on obtient le pH nécessaire et cela provoque le gonflement des fibres. Le gonflement des fibres et l'action mécanique contribuent à décrocher l'encre des fibres. Il se produit une répulsion entre les particules d'encre et les fibres avec la présence des ions  $\text{OH}^-$  présent dans la solution.

La répulsion produite induit le détachement de l'encre. Le surfactant s'adsorbe à la surface des particules d'encres et des fibres et les forces de cisaillement dans le tritrateur provoquent le décrochage total de l'encre (Lorrain, 1998). Le schéma de la figure 2.2 démontre l'action du surfactant (Massoutier, 2001).



**FIGURE 2.3: Schéma du mécanisme de décrochage de l'encre**

## 2.4 Fractionnement de l'encre

La flottation collecte des particules de diamètres variant de 10 à 100  $\mu\text{m}$ . Afin que l'enlèvement des contaminants soit optimal, les particules doivent se trouver dans cet intervalle. Lors de la trituration, les particules d'encre peuvent être fractionnées. Le temps de trituration est une variable importante qu'il faut surveiller adéquatement pour ne pas obtenir des particules trop petites. Les petites particules s'accrochent difficilement aux bulles d'air durant la flottation et restent dans la pâte vont avoir tendance à se redéposer sur les fibres et affecteront la blancheur de la pâte. De plus, de très petites particules sont difficiles à éliminer des eaux de procédé lors de la clarification.

## **CHAPITRE 3**

### **LE DÉSENCRAGE ENZYMATIQUE**

Depuis quelques années, la biotechnologie est impliquée dans plusieurs domaines tels que la pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'entretien ménager, le textile et les pâtes et papiers. La biotechnologie et plus particulièrement l'enzymologie est mise au service de l'industrie papetière est utilisée commercialement depuis quelques années. L'utilisation d'enzymes dans le recyclage des papiers recyclés offre une nouvelle alternative au désencrage conventionnel. Puisque ce dernier est fait à partir d'un procédé chimique, ce procédé bien que robuste ne permet pas aux fibres d'être d'une blancheur comparable à la fibre vierge. Le désencrage enzymatique offre une opportunité biologique qui permet un gain de blancheur, mais aussi de multiples avantages environnementaux. Cependant, il doit être adapté selon le type de vieux papiers à désencrer et le produit final désiré.

Les enzymes les plus connues et utilisées sont la cellulase, la xylanase et la lipase (Bailey, 1998). La commercialisation de ces enzymes est maintenant chose courante. Récemment, plusieurs opportunités dans le milieu papetier ont été démontrées en utilisant l'enzyme laccase (Widsten, 2008). Les enzymes peuvent être utilisées seules ou en combinaison sous forme de cocktails. L'utilisation de ces enzymes dans les pâtes et papiers n'est toutefois pas limitée pour le blanchiment, elle peut aussi servir à la délignification des fibres, au traitement de l'eau de procédé et dans la mise en pâte.

L'utilisation des enzymes dans le désencrage vise à optimiser le décrochage de l'encre des fibres, à diminuer la quantité d'encre résiduelle, à agir sur les groupements chromophores de la lignine et par conséquent augmenter le niveau de blancheur. Les mécanismes permettant ces résultats sont différents selon les enzymes et seront expliqués dans les sections suivantes de ce chapitre.

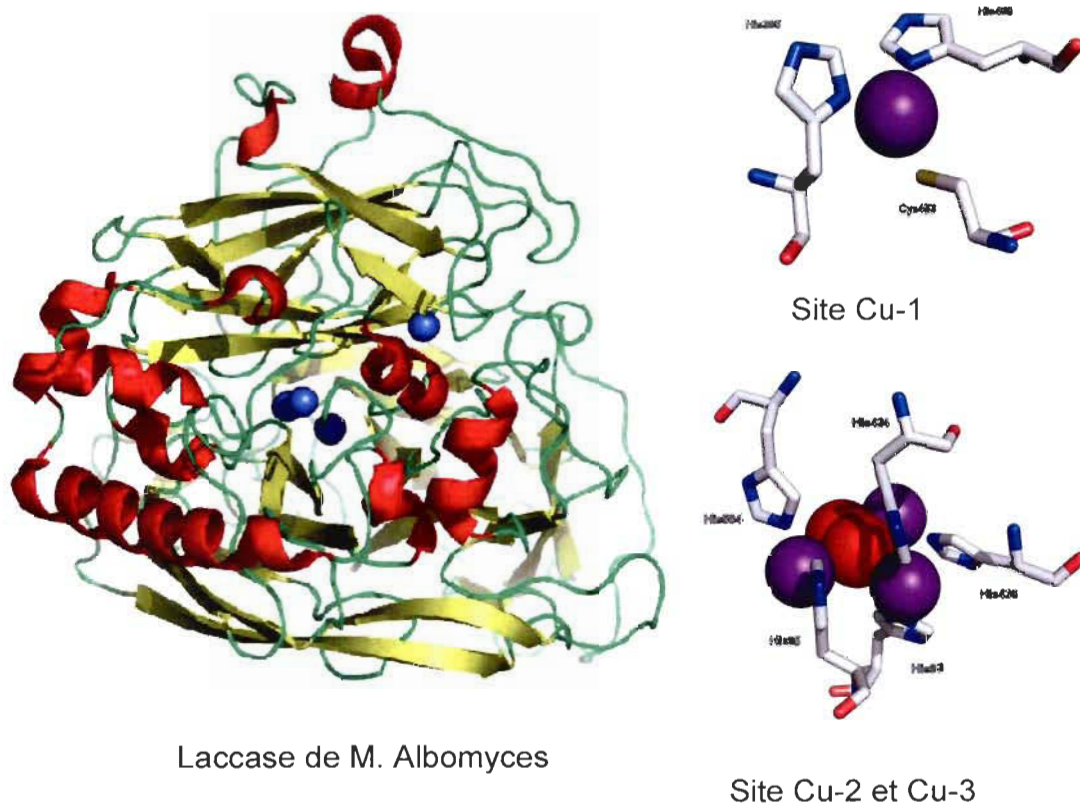
### 3.1 Généralités des enzymes

De nombreuses enzymes sont produites à partir de microorganismes, souvent il s'agit de bactéries ou de mycètes (champignons ou moisissures). Ce sont des macromolécules de natures protéiques qui produisent des réactions biochimiques.

#### 3.1.1 Nomenclature

Afin de les nommer, le suffixe *-ase* est ajouté au nom du composé sur lequel agit l'enzyme (ex. : cellulase) ou il est ajouté au type de réaction induite (ex. : oxydase). Les enzymes agissent sur des groupements chimiques très spécifiques, elles accomplissent des réactions chimiques qui transforment ces groupements dans des conditions bien précises. L'enzyme est considérée comme un catalyseur de réaction (Wolfgang, 2004). Par exemple, la cellulase agit sur les liens glucosidiques de la cellulose jusqu'à former des unités de glucoses.

La structure de base d'une enzyme est constituée de deux unités, qui ont des fonctions tout à fait différentes. La première est le site actif, il s'agit de la section qui reconnaît le groupement ou molécule sur lesquels l'action va être effectuée et le transforme ensuite. Le site actif est très caractéristique et ne peut réagir qu'avec un groupement chimique spécifique (Tableau 3.1). La seconde section est le «domaine d'attache» (binding domain), cette section sert à attacher solidement l'enzyme à la matière afin que le site actif puisse effectuer son action sans contrainte (Figure 3.1). Par contre, ce ne sont pas toutes les enzymes qui possèdent une unité d'attache. Lorsqu'elle est présente, le domaine d'attache est important pour les enzymes utilisées dans les procédés de pâtes et papiers puisque chaque étape du procédé est soumise à de l'agitation. Les deux parties de l'enzyme peuvent être actives lorsqu'elles sont séparées, mais leur action est davantage amplifiée lorsqu'elles sont ensemble. Selon certaines études, pour l'activité souhaitée dans le désencrage des vieux papiers, les deux parties produisent plus de résultats ensemble que séparées (Welt 1994).



**FIGURE 3.1 :** Vu tridimensionnelle de la laccase de *M. Albomyces* et de ces trois sites de Cu

**TABLEAU 3.1:** Types d'affinités possibles pour les enzymes

Type d'affinité	Définition
Absolue	l'enzyme agit sur une seule fonction
Groupe	l'enzyme agit sur un groupe fonctionnel
Lien (linkage)	l'enzyme agit sur un lien particulier
Stéréochimique	l'enzyme agit sur un stéréo-isomère ou un isomère optique particulier

### 3.1.2 Réactions enzymatiques

Les réactions enzymatiques peuvent effectuer différentes réactions de catalyse que présente le tableau 3.2 (Welt, 1994). L'activité enzymatique peut remplacer l'action de certains produits chimiques, car souvent, elle effectue le même travail. De plus, elle ne nécessite aucune énergie d'activation.

**TABLERAU 3.2: Classification des types de catalyse des enzymes**

Classification	Type de réaction catalysée
Oxydoréductase	Réaction d'oxydation-réduction, ajout ou retrait d'un atome d'hydrogène
Transférase	Transfert un groupe fonctionnel entre un donneur et un accepteur de molécule
Hydrolase	Réaction d'hydrolyse
Lyase	Élimination d'un groupe pour former une double liaison ou addition d'une molécule d'eau, ammoniac ou dioxyde de carbone autour de la liaison double
Isomérase	Isomérisation (L à D)
Ligase	Formation de lien avec l'hydrolyse de l'ATP

### 3.1.3 Conditions d'applications

Les variables à contrôler lors d'une réaction avec des enzymes sont la température, le dosage de l'enzyme, la concentration des autres composantes de la réaction, le temps de réaction, la consistance de la pâte, l'action mécanique et les additifs. Chaque enzyme possède des conditions d'applications qui lui sont spécifiques et qui doivent obligatoirement être présentes pour obtenir une activité enzymatique optimale. Si ces variables ne sont pas respectées ou qu'un écart significatif est maintenu, il se produira une dénaturation des enzymes dans la solution ou une diminution de l'activité. La dénaturation est l'inactivation de l'enzyme par un processus physique ou chimique. La

dénaturation physique se produit lorsqu'une petite molécule reste à l'intérieur du site actif de l'enzyme ou qu'elle s'insère dans la zone d'attache, ce type d'inactivation est réversible et rare. Par contre, lorsqu'il s'agit d'une dénaturation chimique, cela implique que l'enzyme a été attaquée chimiquement et que celle-ci ne peut retrouver son activité ultérieurement (Dixon, 1979).

Dans le désencrage, une autre variable doit être prise en considération, le moment du procédé qui sera optimal pour l'ajout de l'enzyme. Il y a quelques années l'interprétation des résultats faisait l'objet d'une controverse, concernant l'endroit dans le procédé où devait être ajouté les enzymes. Maintenant, la majorité des études préconisent l'ajout des enzymes au tritrateur. En faisant le traitement enzymatique au tritrateur, les particules fragmentées ou détachées des fibres sont éliminées de la pâte dans les étapes suivantes. (Kirk, 1996)

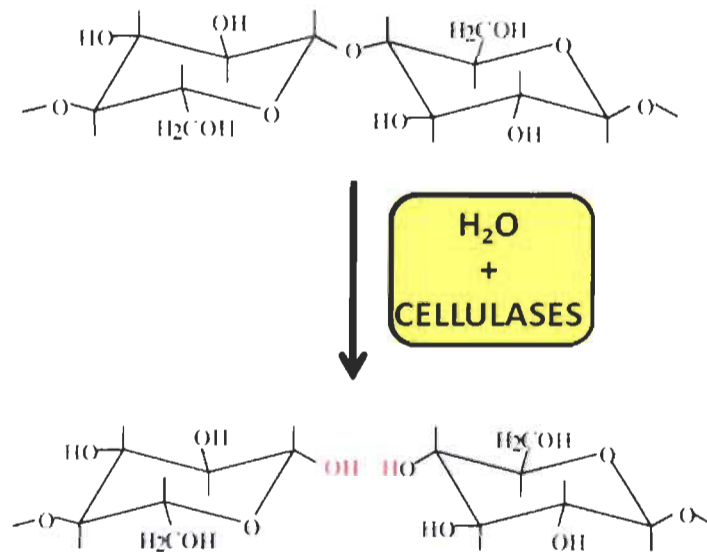
Actuellement, la manipulation génétique des organismes producteurs d'enzymes permet de modifier les souches d'enzymes et de produire des enzymes ayant des conditions d'applications plus tolérantes, donc, plus utile pour le milieu industriel. Par exemple, une cellulase qui avait un pH optimal de 4,5 peut être génétiquement modifiée, afin d'obtenir une autre cellulase effectuant la même action, mais à un pH de 8. Cette innovation a révolutionné l'utilisation des enzymes dans les domaines industriels puisque maintenant ce sont les enzymes qui peuvent s'adapter aux conditions de l'usine et non l'usine qui doit changer son procédé pour pouvoir bénéficier d'une activité enzymatique.

## **3.2 Les enzymes**

### **3.2.1 La cellulase**

La cellulase est l'enzyme la plus connue dans l'industrie, elle est d'ailleurs produite commercialement à grande échelle à partir de champignons ou de bactéries. Les

champignons qui produisent la cellulase peuvent être des groupes des « white-rot », « soft-rot » ou « brown-rot fungi ». Ceux qui ont été étudiés plus en profondeur par l'industrie papetière proviennent des « soft-rot » et sont produits par une moisissure de la famille des *Trichoderma*. Le *Trichoderma* produit un mélange complexe d'enzymes extracellulaires hydrolytiques qui ont des spécificités pour des liens osidiques particuliers, tel que la cellulose (Figure 3.2).



**FIGURE 3.2: Réaction d'hydrolyse des liens osidiques par une cellulase**

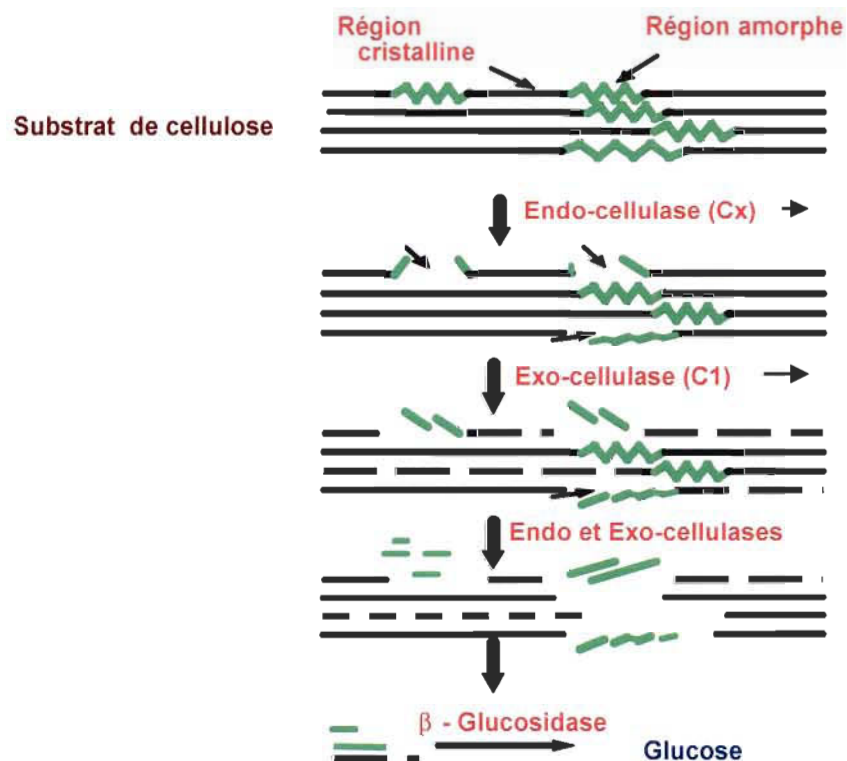
Selon Walker et ses collaborateurs (Walker, 1991), la réaction d'hydrolyse de la cellulase par un complexe enzyme-substrat se fait en cinq étapes :

1. le transfert de l'enzyme dans la phase aqueuse de la pâte à la surface de la cellulose
2. l'enzyme est adsorbée et il y a formation d'un complexe que l'on nomme enzyme-substrat (ES)
3. l'hydrolyse de la cellulose
4. le transfert des produits de réactions dans la pâte et
5. l'hydrolyse des oligomères du glucose dans la phase aqueuse de la pâte.



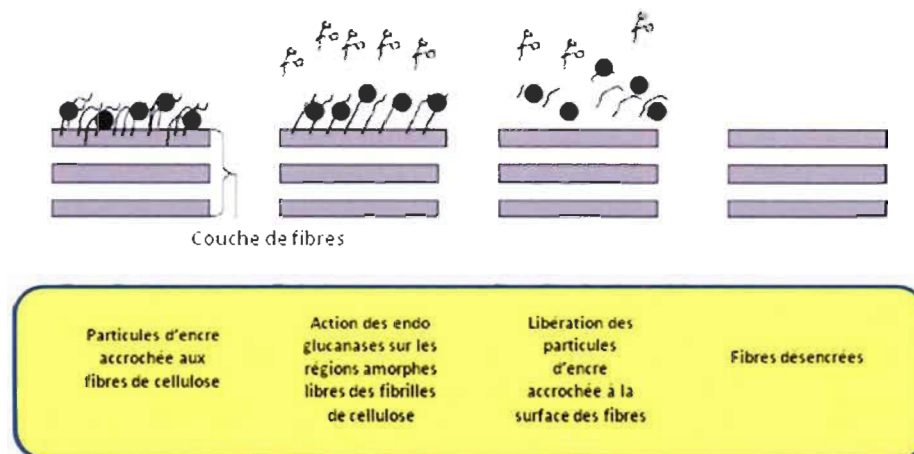
Ce type d'enzyme agit directement sur la cellulose, mais plus facilement sur les zones amorphes de celle-ci. Le mécanisme d'action de cette enzyme suggère que la cellulase dépolymérise les unités de glucoses de la surface des fibres. (Figure 3.3) Elle agit en défaisant les liens glucosidiques aléatoirement, ce qui résulte en une rapide diminution de la force de la chaîne cellulosique et produit des cellobioses, cellotrioses et quelques autres glucoses.

La structure des fibres peut limiter l'accessibilité de l'enzyme à la cellulose, ce sont les propriétés structurelles du matériel cellulosique qui détermine la susceptibilité réactionnelle à la dégradation. Ces propriétés sont le gonflement, la cristallinité, la surface, l'arrangement moléculaire, les associations de la cellulose à d'autres matériels et la structure capillaire de la fibre de cellulose.



**FIGURE 3.3: Synergie des composantes hydrolytiques de la cellulase**

La cellulase peut être divisée en trois composantes : les endo-glucanases, les exo-glucanases (nommé aussi cellobiohydrolases) et les  $\beta$ -glucosidases (nommé aussi cellobiases). La préparation complète de cellulase comprend un mélange de ces trois composantes (Rousselle et al., 2002). L'endo-glucanase effectue le clivage interne de la cellulose, ce qui produit des chaînes plus courtes. L'exo-glucanase quant à elle produit des cellobioses à partir de la chaîne non réductrice de la cellulose et finalement, la cellobiase hydrolyse les cellobioses en glucose. Il existe un synergisme entre ces trois composantes de la cellulase. Le schéma de la figure 3.3 explique le synergisme des composantes de la cellulase (Semedo et al., 2000). Le résultat final de ce mécanisme est l'élimination de certaines chaînes de cellulose. Ce remaniement de la microfibrille laisse la chaîne de cellulose pratiquement intacte puisqu'il va seulement manquer quelques parties selon le temps de réaction (Geng, 2003). Dans la figure 3.4, on peut constater le mécanisme d'action de la cellulase sur une pâte désencrée, le clivage des fibres de surface permet de libérer les particules d'encre qui y étaient attachées (Vyas Santosh, 2003). La cellulase est également utilisée dans la production de bioéthanol. Dans ce cas, le paramètre différent du désencrage est le temps de réaction et ce dernier est beaucoup plus long. (Eriksson et al., 2002)



**FIGURE 3.4: Schéma du mécanisme d'action de l'endo glucanase de la cellulase sur l'encre accrocher aux fibres**

### 3.2.2 La xylanase

La xylanase est une hémicellulase qui agit sur les hémicelluloses, plus précisément sur les xylandes. La xylanase est généralement produite à partir de bactéries, de champignons, d'actinomycètes ou de levures. Elle est présentement utilisée dans le préblanchiment des pâtes kraft, ce qui permet de minimiser l'utilisation de produits chimiques dans les étapes subséquentes de la production de la pâte kraft blanchie. De plus, elle est largement produite commercialement et la plupart des cocktails d'enzymes utilisés dans le désencrage de vieux papiers contiennent des xylanases.

La structure chimique des xylandes est complexe et par le fait même, l'action de la xylanase est complexe aussi. L'hydrolyse complète des xylandes implique plusieurs enzymes hydrolytiques de diverses spécificités et de différents modes d'action. Un système d'enzymes xylanolytiques est composé de plusieurs enzymes :  $\beta$ -1,4-endoxylanase,  $\beta$ -xylosidase,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase,  $\alpha$ -glucuronidase, acétyl xylane estérase et d'acide phénolique estérase (férulique et *p*-coumarique). Ces enzymes agissent en coopération dans la solution pour réduire les xylandes en sucres (Figure 3.5). (Beg, 2001) De plus, tout comme pour la cellulase, un synergisme existe entre les différentes formes de xylanases.

Durant l'hydrolyse des xylandes, un synergisme a été observé entre l'enzyme  $\beta$ -1,4-endoxylanase et les enzymes qui effectuent le clivage des chaînes latérales ( $\alpha$ -L-arabinofuranosidase, acétyl xylane estérase et  $\beta$ -glucuronidase). Le synergisme entre l'acétyl xylane estérase et l'endoxylanase résulte en une dégradation efficace des acétyls xylandes. L'action de l'enzyme acétyl xylane estérase libère de l'acide acétique, ce qui augmente l'accessibilité à la chaîne pour l'endoxylanase. Cette dernière va libérer de plus petit polymère acétylé qui servira de substrat pour les enzymes estérases.



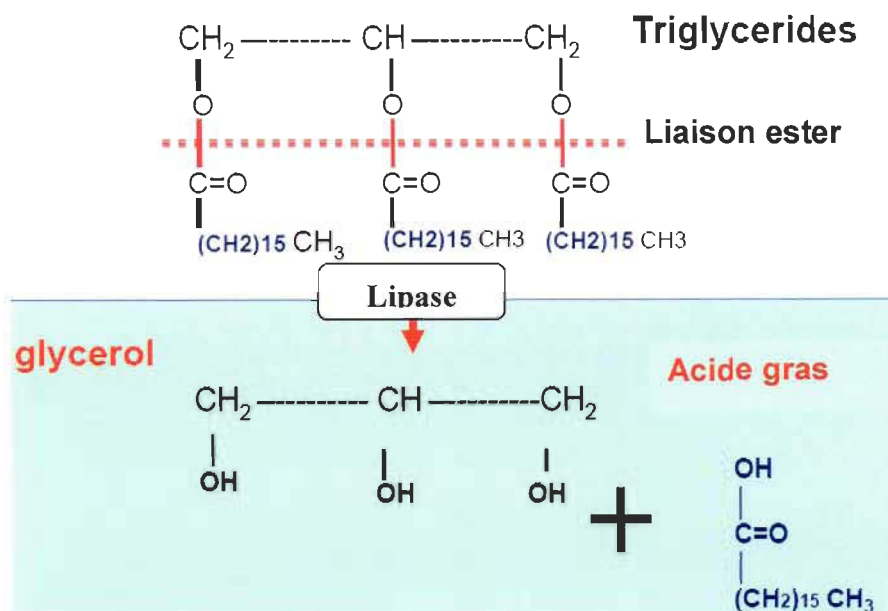
visé le développement d'enzymes plus robustes et efficaces à des températures et pH plus élevés. Les xylanases idéales pour le désencrage enzymatique devraient être suffisamment thermostables et actives dans des conditions alcalines.

### 3.2.3 La lipase

La lipase est une enzyme ayant un rôle d'hydrolyse ou de transestérification. Elle a la possibilité d'agir sur des composés liposolubles, donc sur plusieurs contaminants présents dans les vieux papiers à désencrer, notamment sur certains types d'encre qui ont des véhicules d'huiles végétales. C'est le cas de certaines encres typographiques ou lithographiques pour l'impression du papier journal. L'action générale de la lipase est de catalyser l'hydrolyse des triglycérides en glycérol et en acides gras (Figure 3.6). Le désencrage enzymatique avec une lipase s'avère efficace compte tenu de la dégradation partielle du liant ou du véhicule. De plus, elle offre des propriétés de tensioactif puisqu'elle possède des propriétés amphiphiliques (Morkbak, 1998). Elle peut aussi dégrader la résine du bois, l'appellation résinase est quelquefois utilisée. Elle permet également un contrôle des agglomérats collants ou «stickies» (Sykes et al., 1998) et de la poix (Blanco et al., 2005).

En général, le traitement enzymatique pour régler les problèmes de poix ou de «stickies» est composé seulement de lipases, par contre, lorsque le traitement enzymatique vise l'enlèvement de l'encre, la lipase est parfois mise en combinaison avec des cellulases et/ou des xylanases.

L'action de la lipase sur les encres à base d'huile végétale est différente selon la grosseur de la particule d'encre. La lipase est plus efficace sur les particules de petits ou moyens diamètres que les larges particules. Selon plusieurs études, des gains de blancheur ainsi que des diminutions d'encres résiduelles sont observés (Morkbak, 1998; Morkbak, 1999; (Spiridon, 2005).



**FIGURE 3.6: Mécanisme d'action de la lipase sur les triglycérides**

### 3.2.4 La laccase

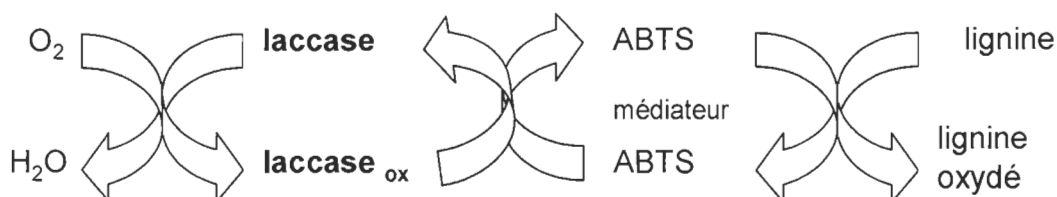
La laccase est une enzyme de type ligninases, c'est-à-dire qu'elle est capable de dégrader la lignine. La laccase est une enzyme oxydative à base de cuivre, elle est capable de réagir spécifiquement avec différents types de résidus phénoliques de la lignine en présence d'oxygène comme accepteurs d'électrons. La spécificité du substrat de la laccase et le fait qu'elle utilise l'oxygène moléculaire comme accepteur d'électrons au lieu du peroxyde d'hydrogène comme l'enzyme lignolitique peroxydase, rend la laccase très intéressante pour des applications industrielles et environnementales (Camarero, 2005).

La laccase possède quatre atomes de cuivre divisé en trois sites. Les sites de type 1 et 2 possèdent chacun un atome de cuivre et sont impliqués dans la capture et le transfert d'électrons. Le Cu de type est appelé le « trinuclear copper cluster site » et produit la molécule d'H<sub>2</sub>O à partir de l'oxygène moléculaire (Figure 3.1).

L'efficacité oxydative de la laccase dépend de la différence de potentiel redox entre le substrat réduit et le Cu de type 1 de la laccase. Le potentiel redox permet de qualifier et de classer une solution aqueuse plutôt oxydante ou réductrice. Le potentiel redox de la laccase est bas (0,5 à 0,8 V) et permet de dégrader des composés phénoliques à bas potentiel redox par oxydation. La plupart des laccases sont produites à partir du champignon *Trametes versicolor*. Avec la xylanase, la laccase a été l'enzyme la plus investiguée pour le bioblanchiment des pâtes kraft, car elle peut être produite dans de large quantité et à prix raisonnable.

Le potentiel redox de l'enzyme peut être augmenté si elle est couplée avec un médiateur à bas poids moléculaire, ce qui permet d'oxyder également des composés non phénoliques. On nomme ce couplage le système laccase-médiateur (LMS). Cette dernière action est priorisée dans le désencrage des vieux papiers puisqu'elle agit sur la blancheur de la pâte. Les médiateurs ayant une action plus efficace sont le 2,2'-anizobis-(-3-éthyl-benzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) et le 1-hydroxybenzotrizole (HBT) (Knutson, 2004a). Cependant, ces deux médiateurs sont très coûteux, un médiateur plus accessible économiquement est l'acide violurique (VA). En plus d'être coûteux, les médiateurs ne sont pas tous biodégradables et sont potentiellement toxiques (Garcia et al., 2003).

La figure 3.7 démontre le mécanisme d'oxydation de la lignine par le LMS (Paice et al., 1995).



**FIGURE 3.7: Mécanisme d'oxydation du LMS sur la lignine**

Récemment, l'application du LMS dans la dégradation de composés aromatiques xenobiotiques incluant les biphényles polychlorures, les fongicides, les colorants industriels et d'autres hydrocarbures aromatiques a été étudiée. Jusqu'à maintenant, le système laccase-médiateur n'a pu être instauré à l'échelle industrielle à cause du coût du médiateur et qu'il n'est toujours pas prouvé que le médiateur ou ses dérivées n'ont aucun effet toxique pour l'environnement. Des études sont menées sur des médiateurs naturels qui pourraient être une alternative acceptable aux problèmes rencontrés (Camarero, 2005).

La laccase est aussi utilisée dans la mise en pâte pour les pâtes mécaniques ou chimiques (Mansfield, 2002). De plus, plusieurs études sont en cours pour la délignification et le blanchiment des pâtes kraft par un LMS. Cette enzyme est aussi nouvellement utilisée dans le traitement de l'eau de procédé (Zhang, 2005, 2000). Dans le désencrage, le complexe LMS permet d'obtenir de bons résultats au niveau du blanchiment de plusieurs types de pâtes. L'enzyme laccase s'est avérée efficace pour désencrer les colorants récalcitrants tels que Direct Yellow 11 (Knutson, 2004a).

### **3.3 Le désencrage enzymatique**

Tel que mentionné précédemment, le désencrage conventionnel utilise plusieurs produits chimiques pour réussir à éliminer le plus de contaminants possible, ce qui rend la méthode coûteuse et dommageable pour l'environnement. De même, la qualité des fibres recyclées, les propriétés optiques et physiques sont loin d'être l'équivalent des fibres vierges. Aussi, les niveaux de blancheur observés suite au désencrage sont peu satisfaisants. Suite à un désencrage conventionnel, le maximum de blancheurs obtenu est aux environs de 65 % ISO, mais généralement, les niveaux de blancheur se situent entre 55 et 60% ISO.



Les objectifs principaux du recyclage sont d'enlever l'encre et les autres contaminants en maintenant les propriétés optiques et physiques des fibres. Les enzymes peuvent être utilisées pour augmenter le taux de drainage, faciliter l'enlèvement des contaminants, augmenter la blancheur et améliorer les forces de liaison entre les fibres recyclées (Kenealy, 2003). L'application d'un traitement enzymatique pour désencrer et enlever les contaminants peut être bénéfique pour faciliter la séparation des fibres des contaminants lors de la flottation ou du lavage. Le désencrage enzymatique est en voie de devenir une intéressante avenue pour les industries œuvrant dans les pâtes désencrées selon le développement des enzymes.

Bien que certaines usines de désencrage utilisent les cellulases, le désencrage enzymatique n'est cependant pas accessible à toutes les compagnies. En effet, le traitement enzymatique peut nécessiter l'acquisition d'une ou plusieurs nouvelles pièces d'équipement, ce qui devient une question d'espace et d'argent. Un autre inconvénient peut être l'adaptation des conditions de l'usine aux conditions de l'enzyme. Comme mentionnée précédemment, les enzymes nécessitent des conditions d'applications particulières, une adaptation dans les conditions du procédé peut s'avérer nécessaire afin que le traitement puisse être efficace.

### **3.3.1 Désencrage avec des cellulases**

Au début du désencrage enzymatique, la cellulase produite par le champignon *Trichoderma reesi* fut l'enzyme qui a été la plus utilisée dans les expériences (Kim et al., 1991). Lors de ces études, la variation de la concentration de l'enzyme ainsi que le temps de trempage ont été majoritairement étudiés. Les résultats obtenus par Kim ont démontré qu'avec une préparation de cellulases, il était possible d'obtenir les mêmes résultats de blancheur que le désencrage conventionnel ainsi que de diminuer de moitié l'utilisation de peroxyde d'hydrogène lors de l'étape de blanchiment, mais il faut spécifier que la durée du traitement est de plus de 12 heures. Il était aussi possible d'augmenter l'indice

d'égouttage et les propriétés physiques de la feuille. Cependant, l'utilisation de cellulase du champignon *Trichoderma reesi* devait se produire sous un pH acide et le temps de la réaction était de plusieurs heures. Dans ces conditions, cette méthode n'est pas réalisable industriellement, car trop de modifications au procédé actuel devront être apportées et que le temps de réaction est beaucoup trop long.

Suite aux premières découvertes dans le domaine du désencrage enzymatique, les scientifiques ont mis l'accent sur l'étape du procédé où le traitement enzymatique devait être fait. Deux hypothèses étaient majoritairement proposées, la première faisait l'objet d'effectuer un prétrempage et la seconde d'ajouter les enzymes pendant la trituration. Aucune réponse claire n'est encore connue à ce jour, cependant, il est important d'effectuer le traitement enzymatique avant la flottation, afin d'optimiser cette dernière.

Plus récemment, la découverte de nouvelles cellulases pouvant être efficaces à pH neutre ou alcalin offre de nouvelles avenues. L'un des champignons produisant cette enzyme est *Trichoderma viride*, mais d'autres champignons peuvent aussi produire des cellulases tolérantes à pH alcalin. Selon l'étude de Vyas Santosh (2003), le champignon *Fusarium sp.* produirait des cellulases alcalines. Dans cette étude, seules les endo-glucanases ont été utilisées pour le traitement de vieux papiers bureau et les résultats ont démontré une augmentation de la blancheur ainsi qu'une réduction de la quantité d'encre résiduelle. Afin de connaître le mécanisme d'action de la cellulase alcaline, ils ont mesuré la réduction des fibres de celluloses. Le mécanisme qui est proposé dans cette étude est que le complexe d'enzyme agirait principalement à la surface du substrat dans les zones amorphes (Figure 3.3).

### 3.3.2 Désencrage avec des hémicellulases

L'enzyme xylanase a été utilisée dans le désencrage des vieux papiers quelques années après l'utilisation de cellulases. Dans les débuts de l'utilisation des xylanases dans les

pâtes et papiers, elle fut utilisée dans une étape de préblanchiment pour les pâtes désencrées. À cette époque, son utilisation était la même pour le désencrée que pour les pâtes kraft (Kirk, 1996). La dégradation que provoque les hémicellulases sur les hémicelluloses permet d'optimiser le blanchiment peu importe l'agent de blanchiment employé par la suite. Dans les études récentes, les xylanases ont surtout été employées en combinaison avec des cellulases (Pala, 2004; Lee, 2007) ou d'autres enzymes. Cependant, les gains obtenus avec la xylanase sont inférieurs à ceux obtenus avec la cellulase.

### **3.3.3 Désencrage avec des lipases**

L'utilisation de lipases dans le désencrage est relativement récente. La plupart des études obtiennent de bons résultats lorsque l'encre contenue dans les papiers à désencrer contient de l'huile végétale ou lorsque l'objectif est la diminution de poix ou de «stickies» (Blanco, 2005). Cependant, l'un des inconvénients de ces études est que le papier qui est désencré est imprimé seulement avec de l'encre à base d'huile végétale. Par contre, dans l'industrie, la portion de papier qui a été imprimé avec de l'huile végétale ou minérale n'est pas connue lors de la réception des VPJ sous forme de ballots provenant des centres de triage. Cela suppose que l'efficacité de la lipase démontrée dans ces études n'est pas applicable à la réalité.

En 1998, Morkbak et Zimmermann ont comparé des essais de désencrage avec la lipase sur des VPJ imprimés avec de l'huile végétale et des VPJ imprimés avec des véhicules d'encre inconnus. Dans cette étude, l'amélioration de la blancheur et des propriétés physiques a été supérieure pour le VPJ imprimé avec de l'huile végétale. Aussi, la combinaison de lipases avec des cellulases et des xylanases a été plus efficace. Finalement, il semblerait que la lipase aurait eu un effet de dégradation sur le véhicule d'encre, mais également de collecteur facilitant l'enlèvement de petites particules (Figure 3.6).

La lipase est présentée comme favorable pour le désencrage dans l'étude de Spiridon (2005) car elle a permis de diminuer le contenu en encre résiduelle et d'augmenter certaines caractéristiques du papier. L'ajout de 15 UI/g de lipase a réduit la valeur d'ERIC d'environ 100 ppm, amélioré la blancheur de 11, 0 % ISO et augmenté le drainage. Cependant, la combinaison de cellulase et de xylanase a démontré de meilleurs résultats que la lipase seule. Une autre étude suggère que la lipase est efficace pour diminuer les rejets de fibres dans la flottation, car elle change les particularités hydrophobes des particules (Yong Ruy, 2008).

### **3.3.4 Désencrage avec le système laccase-médiateur**

Le désencrage des vieux papiers avec la laccase est récent et date seulement de la dernière décennie. Peu d'exemples d'utilisation de laccase sur une pâte désencrée sont présentés dans la littérature.

Tel que mentionné précédemment, l'enzyme laccase seule agit sur les groupements phénoliques de la lignine et le couplage de l'enzyme avec un médiateur permet au système d'agir sur des groupements autres que phénoliques (Figure 3.7). Le LMS s'est avéré efficace dans le blanchiment des pâtes désencrées dues aux changements qu'il peut effectuer sur les chromophores de la lignine (Xu, 2006). De plus, le LMS a aussi démontré des résultats encourageants dans le blanchiment des colorants récalcitrants tels que le Yellow Direct 11 (Knutson, 2004a).

### **3.3.5 Désencrage avec une combinaison d'enzymes**

La combinaison d'enzymes a également fait l'objet de plusieurs études. Le mélange d'hémicellulases et de cellulases a été le plus fréquemment utilisé, mais, depuis quelques années, le mélange de cellulases, xylanases et de lipases est étudié. Généralement, les résultats obtenus avec des combinaisons d'enzymes sont supérieurs comparativement aux traitements avec une seule enzyme, tel que démontré dans l'étude de Spiridon et

Belgacem (Spiridon, 2004). Par contre, dans le cas de l'étude de Spiridon et Machado de Andrade, la combinaison de cellulases, xylanases et lipases pour désencrer du vieux papier journal, a démontré que la mixture était moins efficace que les résultats obtenus avec les enzymes séparément (Spiridon, 2005). En effet, la blancheur maximale a été obtenue avec un traitement de cellulases et la mesure d'encre résiduelle (ERIC) la plus basse fut pour le traitement avec la lipase seule. Cependant, la combinaison la plus efficace a été le mélange de cellulases et de xylanases.

En 2007, la combinaison de cellulases ou xylanases avec un LMS a aussi été étudié (Xu, 2008). L'étude rapporte qu'un traitement de cellulases ou de xylanases suivi séquentiellement d'un traitement avec LMS serait plus efficace du point de vue de l'augmentation de la blancheur et de la diminution de l'encre résiduelle suite à l'étape de blanchiment au peroxyde d'hydrogène qu'un traitement enzymatique simple.

## CHAPITRE 4

### MÉTHODOLOGIE

#### 4.1 Objectifs du projet

Plusieurs objectifs ont été établis dans le cadre de ce projet. Dans un premier temps, il s'agissait de déterminer les conditions de pH et de concentration de lipase et de laccase qui permettait d'obtenir la meilleure amélioration des propriétés optiques, tout en étant dans un contexte réalisable dans un milieu industriel. Dans un deuxième temps, nous avons déterminé si l'ajout d'un tensioactif à ces conditions optimales pour chacune des enzymes permettait d'obtenir des gains supplémentaires, nous avons évalué s'il existait un synergisme entre la lipase et le LMS.

#### 4.2 Pâte utilisée

La pâte désencrée utilisée lors de l'expérimentation provient de l'usine Kruger Bromptonville. Cette pâte est fabriquée d'une proportion de VPJ variant de 70 à 80 % et de VPM dans une proportion de 20 à 30%. Elle a été désencrée dans des conditions de désencrage conventionnel décrit précédemment et blanchit à l'hydrosulfite de sodium. La pâte fût renouvelée environ tous les mois, car le vieillissement de celle-ci affectait les propriétés optiques initiales.

#### 4.3 Activité enzymatique de la lipase

La première enzyme utilisée a été une lipase non commerciale produite par la compagnie Innu-science. La lipase reçue avait une concentration de 93,5 UI/g. L'activité lipolytique de cette enzyme a été mesurée par Innu Science par dosage spectrophotométrique du *para*-nitrophénol (pNP) libéré suite à l'hydrolyse du substrat palmitate de *para*-

nitrophényle (pNPP). Le pNP est un composé chromogène jaune qui a une absorption maximale à environ 405 nm, dépendamment du pH et de la température à laquelle la mesure est prise. Innu-science nous a fourni l'activité enzymatique relative de la lipase en fonction de la température et du pH, ces données sont présentées dans le chapitre 5. La lipase a été fournie dans une solution tampon à pH 5,5 et elle a été conservée à une température de -4 à -8°C.

#### 4.4 Activité enzymatique de la laccase

##### 4.4.1 Détermination de l'activité enzymatique de la laccase

La laccase provient de chez Sigma-Aldrich, il s'agit d'une enzyme produite à partir de l'arbre *Rhus vernificera*. Cette enzyme a été reçue sous forme poudreuse avec la définition de l'indication que l'activité enzymatique correspond à une augmentation de 0,001 d'absorbance par minute, à un pH de 6,5 et une température de 30°C en utilisant la syringaldazine comme substrat. Le produit de la syringaldazine oxydée est une quinone de couleur fuchsia ayant un maximum d'absorbance à 530 nm, tel que démontre l'équation 4.1. La détermination de l'activité s'est fait en mesurant l'absorbance de la quinone avec un spectrophotomètre UV-visible *Varian cary 3* à doubles faisceaux.



La formation de la quinone s'est effectuée dans une solution comprenant trois réactifs : un tampon de type Britton-Robinson, une solution de syringaldazine et une solution de laccase. Le tampon a été fabriqué à partir d'acide acétique, d'acide phosphorique, d'acide borique à 0,1 M et d'hydroxyde de sodium à 0,5 M. La solution de syringaldazine de 0,0833 mM a été fait dans du méthanol de type ACS. La solution de laccase était préparée le jour même de la prise des mesures, pour les expériences, nous voulions que la solution contienne de 20 à 50 unités par millilitres (U/mL). Selon

l'estimation donnée par Sigma-Aldrich que l'activité était de 120 unités par milligrammes (U/mg) alors la masse de laccase était environ 10 mg. La masse de laccase était dissoute dans 25 mL d'eau et les particules en suspension ont été éliminées par filtration sous vide sur filtre de microfibre de verre.

Les mesures d'absorbance ont été effectuées à 530 nm, à pH 6,5 pendant 10 minutes avec un délai d'une seconde entre chaque mesure. Le blanc de l'appareil a été réalisé avec de l'eau dans les deux cellules, tandis que le blanc et les échantillons d'analyse ont été réalisés dans les mêmes cellules, mais les volumes des réactifs ont été ajoutés avec des pipettes automatiques appropriées et dans l'ordre présenté dans le tableau 4.1. Par la suite, 80µL de la solution de syringaldazine a été ajouté, mélangé par 5 inversions de la cellule et l'appareil a été mis en route pour 10 minutes. L'expérience a été effectuée en triplicata (Manole, 2008).

**TABLEAU 4.1: Volume des réactifs contenus dans les cellules du spectrophotomètre pour le blanc et l'échantillon**

Réactifs	Blanc	Essai
Tampon Britton à pH 6,5	1,92 mL	1,92 mL
Eau déminéralisée	1,00 mL	---
Solution de laccase 20-25 U/mL	---	1,00 mL

Suite aux mesures d'absorbance en fonction du temps, une régression linéaire a pu être extraite de l'ensemble des données pour chaque réplica. Puisque l'activité enzymatique est définie par l'augmentation de l'absorbance dans le temps, la pente des droites de la régression linéaire pouvait être traduite en activité enzymatique en U/mg, tel que le démontre l'équation 4.2.



$$\frac{m \times f_{dilution}}{\Delta A_{unité} \times V_{enzyme}} = a_{laccase} \quad [4.2]$$

Où

$f_{dilution}$  est le facteur de dilution de la solution d'enzyme définie par l'équation :

$$\frac{Volume_{solution} (mL)}{masse_{enzyme} (mg)} \text{ soit } 2,5 \text{ mL} \cdot \text{mg}^{-1}$$

$m$  est la pente de la droite de régression linéaire

$\Delta A_{unité}$  est la différence d'absorbance définie par  $0,001 \text{ unité} \cdot \text{min}^{-1}$

$V_{enzyme}$  est le volume de la solution de laccase

Les essais ont été réalisés trois fois et la moyenne de ces essais a été calculée.

#### 4.4.2 Détermination de l'activité enzymatique de la laccase en fonction de la température

L'activité enzymatique de la laccase en fonction de la température a été déterminée selon la méthode présentée à la section 4.4.1 avec quelques variations. Tout d'abord, les mesures ont été prises avec un spectrophotomètre Lambda 25 de Perkin Elmer avec le contrôle de la température dans un bain Fisher. L'activité enzymatique a été mesurée à deux reprises aux températures 22, 30, 40, 50, 60 et 70°C.

La particularité de cet appareil est que la température du porte-cellule peut être contrôlée. Tous les réactifs étaient ajoutés dans la cellule 10 minutes avant le début de la prise de mesure afin d'atteindre la température souhaitée. Après cette attente, la syringaldazine était ajoutée et mélangée par 5 inversions. L'absorbance était mesurée pendant 10 minutes et transformée en activité enzymatique par régression linéaire.

#### **4.4.3 Détermination de l'activité enzymatique de la laccase en fonction du pH**

La détermination de l'activité de la laccase en fonction du pH a été effectuée de la manière qui est décrite dans la section 4.4.1, la seule distinction est le pH de la solution tampon. L'activité a été déterminée en double pour les pH 5,5, 6,5, 7,5, 8,5 et 9,5.

### **4.5 Méthode**

La méthode utilisée au cours de l'étude comporte trois grandes étapes : le traitement enzymatique, la flottation et le blanchiment, ces étapes sont décrites en détail dans les sections suivantes. Pour chacune des pâtes testées, une expérience de référence et un témoin ont été réalisés. La référence comporte seulement les étapes de flottation et de blanchiment sans l'ajout d'enzyme et le témoin comporte les trois étapes sans l'ajout d'enzyme.

La référence et le témoin sont comparés au chapitre 5. Toutes les manipulations au laboratoire ont été réalisées avec de l'eau déminéralisée.

#### **4.5.1 Prétraitement au DTPA**

Comme le but de cette étape est de diminuer le contenu en ions métalliques présents dans la pâte, un agent chélatant (DTPA) a été utilisé. Le prétraitement s'effectue à une consistance de 3% avec un ajout de DTPA de 0,2% par gramme de pâte sèche, à une température de 60°C, pendant un temps de 15 minutes. Par la suite, la pâte a été épaissie à l'aide d'un entonnoir Büchner (papier filtre de grade 202, Whatman Inc) afin d'obtenir une consistance d'environ 30%. Ensuite, elle a été séchée à l'air libre pendant 12 à 24 heures afin d'obtenir une pâte d'une siccité de 40 à 50%.

### 4.5.2 Traitement enzymatique

Pour chaque essai, une quantité de 50 g secs de pâte a été utilisée. Dans un premier temps, la quantité d'eau nécessaire pour obtenir une consistance de la pâte à 5 % a été chauffée à environ 60 °C. Ensuite, selon si les réactifs devaient être présents ou non dans l'essai, ils ont été ajoutés à l'eau dans cet ordre : NaOH, tensioactif, enzymes et médiateur. Le NaOH utilisé avait une concentration de 0,1 M et les solutions de tensioactifs étaient de 1,0 %. La solution de lipase fournie par Innnu Science avait une concentration de 93,5 UI/g et pouvait être ajoutée directement dans la pâte. Cependant, la solution de laccase devait être fabriquée à partir de l'enzyme en poudre mélangé à de l'eau et cette solution hétérogène était filtrée sur fibre de verre. La solution de laccase devait toujours être faite la journée même et donc la concentration variait d'une journée à l'autre. La solution de médiateur à 25 g/L a été fabriquée avec du méthanol de grade ACS.

Les tensioactifs Amphosol 810B, Ninol CC, Berol 840 et Deteric ODP-LF ont été utilisés dans l'étape du traitement enzymatique. L'Amphosol 810B et le Deteric ODP-LF sont des tensioactifs amphotériques du type capry/capramidopropyl bétaine et octyl dipropionate. Tandis que le Ninol CC et le Berol 840 sont des tensioactifs non ioniques de courtes chaînes du type alcool éthoxylé. Tous ces tensioactifs sont biodégradables en anaérobiose et en aérobiose et ne se bioaccumulent pas. Cependant, la toxicité aquatique du Berol 810B est la plus élevée et celle du Deteric ODP-LF la plus faible des quatre tensioactifs utilisés.

Un mélangeur de cuisine Kitchen Aid a été utilisé pour mélanger l'eau avec les réactifs à la pâte pendant 5 minutes. Pour les expériences qui ont nécessité un ajustement de pH de la pâte, la quantité de NaOH à ajouter a été déterminée sur un échantillon de 10 g secs de pâte à 5 % avec la concentration d'enzyme et de médiateur nécessaire pour chaque expérience. Suite au mélange de la pâte avec les réactifs, le pH a été mesuré et la pâte a été placée dans un sac qui a été scellé et placé dans un bain à 50 °C pendant 180

minutes. Après le temps de rétention, le pH a été mesuré de nouveau et la consistance a été ajustée à 1 %. Cette suspension a été filtrée sur entonnoir Büchner (papier filtre de grade 202, Whatman Inc) pour récupérer la pâte et déchiquetée à la main. Une quantité de 8 g secs a été récupérée pour faire une série de feuilles 4 g secs.

#### **4.5.3 Flottation**

Pour préparer la suspension de pâte, les 42 g secs de l'étape précédente ont été désintégrés en deux fois avec de l'eau chaude déminéralisée pour atteindre une consistance de 0,55 %. Nous avons ajouté à la suspension avec un mélangeur à 800 tr/min : 0,3 % d'acide oléique, ajusté le pH à 9,0 avec du NaOH (2 M) et ajouté 200 ppm de chlorure de calcium. La flottation a été effectuée dans une cellule de laboratoire de marque Leeds. Le réservoir de la cellule de flottation a été rempli avec 6,5 L de suspension à 50 °C. La flottation a été effectuée avec un débit d'air de 3L/minutes pendant 5 minutes. Après la flottation, seulement la partie inférieure de pâte dans le réservoir a été récupérée et ajustée à un pH de 5,0 pour éviter une réversion de blancheur sur les feuilles qui seront formés avec cette pâte. Suite à la mesure de la consistance après la flottation, une série de feuilles de 4 g secs a été réalisée et le reste de la pâte a été récupéré sur entonnoir Büchner (papier filtre de grade 202, Whatman Inc) et déchiqueté à la main.

#### **4.5.4 Blanchiment au peroxyde d'hydrogène**

Tout d'abord, la siccité et la masse sèche de la pâte résiduelle de l'étape de flottation ont été mesurées. Le blanchiment s'est déroulé à une consistance de 12 %, une température de 70°C dans un bain à température contrôlée et un temps de rétention de 180 minutes. La pâte a été déposée dans des sacs de polyéthylène et la liqueur de blanchiment fraîche y a été incorporée. La liqueur de blanchiment était constituée de  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (3,00%), d'un peu d'eau, de NaOH (2,36%) et de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (3,00%), ces réactifs ont été ajoutés dans cet ordre lors de la préparation de la liqueur. Un peu d'eau a été gardé pour rincer le bécher

ayant servi à fabriquer la liqueur. Le contenu du sac a été trituré à la main pendant deux minutes et le pH du milieu a été noté. La température a été ajustée aux environs de 70 °C dans un four micro-onde. Par la suite, les sacs ont été scellés et déposés dans le bain.

Après la période de rétention, la liqueur résiduelle a été extraite par pressage de la pâte et le taux de  $\text{H}_2\text{O}_2$  résiduel et le pH ont été mesurés à partir de cette liqueur. L'analyse du  $\text{H}_2\text{O}_2$  résiduel a été réalisée selon la méthode J.16P de l'ATCPP, durant la même journée que le blanchiment. Par la suite, la pâte a été diluée à une consistance d'environ 1% et le  $\text{H}_2\text{O}_2$  résiduel a été neutralisé avec du métabisulfite de sodium à un pH de 5,5. La pâte a été récupérée sur entonnoir Büchner (papier filtre de grade 202, Whatman Inc) et déchiquetée à la main. Une série de feuilles de 4 g secs a été réalisée.

## **4.6 Analyse des pâtes**

### **4.6.1 Formation des feuilles**

Suite aux étapes de prétraitement au DTPA, de traitement enzymatique, de flottation et de blanchiment, des feuilles de 4 g de pâte sèche ont été fabriquées sur une formette anglaise. Ces feuilles ont été formées selon la méthode C.5 de l'association technique canadienne de pâtes et papiers (ATCPP).

### **4.6.2 Détermination de la blancheur ISO**

La blancheur est la mesure de la quantité de lumière réfléchiée par le papier dans des conditions spécifiques et reportées en pourcentage. Elle est mesurée par la réflectance de la lumière bleue (longueur d'onde de 457 nm) sur un échantillon d'une opacité infinie. La référence qui est considérée comme le 100 % de blancheur est obtenu par l'oxyde de magnésium. La blancheur ISO est la mesure utilisée au Canada, mais il existe d'autres méthodes pour mesurer la blancheur. La blancheur permet de mesurer l'efficacité du blanchiment et du désencrage.

Suite à la confection des feuilles, ces dernières ont été placées dans une salle à humidité contrôlée (23°C, 50 % d'humidité) pour un séchage d'au moins une nuit. Les lectures de la blancheur ISO ont été réalisées avec l'appareil Color Touch de marque Technydine selon la méthode E.1 de l'ATCPP.

#### **4.6.3 Détermination de la concentration d'encre résiduelle**

L'encre et les contaminants contenus dans la pâte désencrée influencent la blancheur. On peut mesurer la concentration d'encre résiduelle effective (ERIC) par la réflectance dans la région infrarouge à 950 nm. À cette longueur d'onde, seules les particules d'encre ont une influence sur la réflectance, car les fibres, les pigments et les autres composantes du papier absorbent à des longueurs d'onde inférieures. La valeur d'ERIC est le rapport entre la valeur du coefficient d'absorption de la pâte ou du papier contenant de l'encre et celui de l'encre elle-même à 950 nm, exprimée en ppm.

La détermination de la concentration effective d'encre résiduelle a été mesurée avec l'appareil Color Touch de marque Technydine sur le côté lisse des feuilles de 4g sec. La méthode employée est la méthode TAPPI 567 om-97.

## CHAPITRE 5

### OPTIMISATION DE LA LIPASE

Tous les essais ont été réalisés sur des pâtes désencrées provenant de la même usine, cependant, la pâte a été renouvelée mensuellement, car le vieillissement rapide de celle-ci affectait négativement la blancheur. Dans un premier temps, nous avons évalué si l'effet du traitement enzymatique sur les propriétés optiques de la pâte.

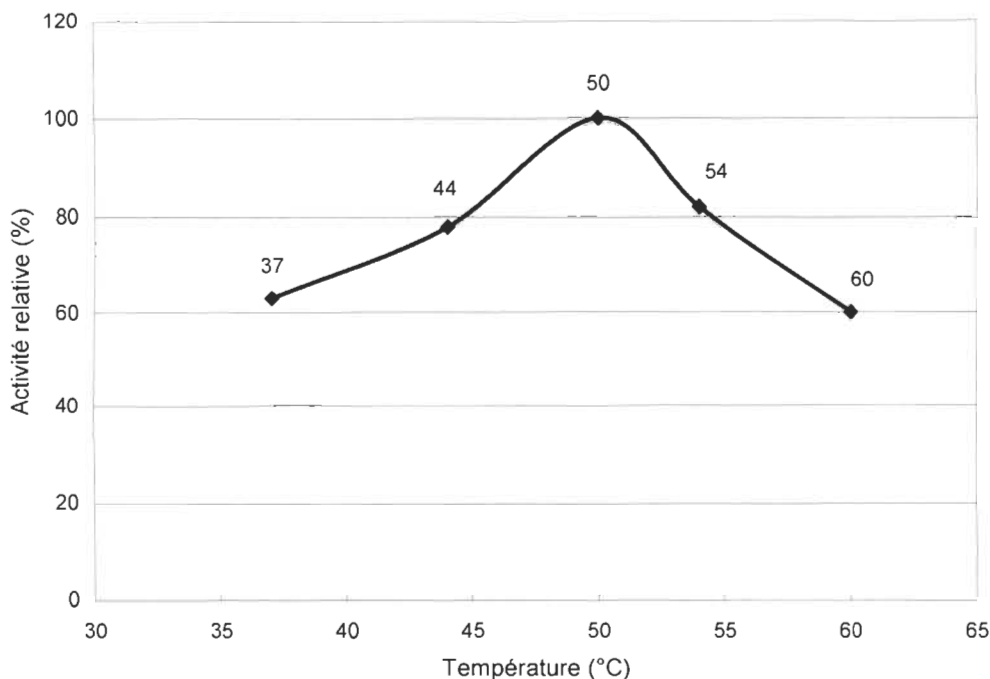
Nous avons étudié plus particulièrement la variation des aux résultats obtenus, nous avons déterminé l'étape préférentielle d'ajout d'un tensioactif et la concentration qui permettait la meilleure amélioration des propriétés optiques.

Les mêmes conditions ont été déterminées pour la laccase et le LMS afin de combiner la lipase et le LMS, les résultats sont présentés dans les chapitres suivants.

#### 5.1 Activité enzymatique

L'activité de la lipase a été déterminée par dosage spectrophotométrique du *para*-nitrophénol (pNP) libéré suite à l'hydrolyse du substrat palmitate de *para*-nitrophényle (pNPP).

L'optimum d'activité enzymatique a été obtenu à 50°C, tel que présenté à la figure 5.1, et pour cette raison, la température de réaction de tous les échantillons a été fixée à 50°C.



**FIGURE 5.1: Activité relative de la lipase en fonction de la température (Innu Science)**

## 5.2 Comparaison des témoins et références

Afin d'avoir un point de comparaison pour chaque échantillon, des expériences références et témoins ont été effectués sur chaque pâte. Le tableau 5.1 présente les différentes étapes qui sont présentes dans le cas des témoins et des références. Le témoin a subi les étapes du traitement enzymatique, de la flottation et du blanchiment, sans l'ajout d'enzyme ou d'autres chimiques dans la première étape. Par contre, la référence a seulement subi les étapes de flottation et de blanchiment. Les propriétés optiques des témoins et des références ont été mesurées et comparées afin de vérifier si l'étape du traitement enzymatique même sans enzyme pouvait avoir un effet.

Différentes pâtes nous permettent de conclure que le traitement enzymatique n'a aucun effet sur les propriétés optiques de la pâte (Tableau 5.2). Le temps de rétention de trois



heures à 50°C et la filtration à la fin du traitement enzymatique n'ont aucune incidence sur les propriétés optiques de la pâte. Suite à ces résultats, nous avons seulement réalisé la référence pour chacune des pâtes étudiée afin de servir de point de comparaison pour tous les résultats. Dans les tableaux et figures qui suivent, les blancheurs ISO et les ERIC du traitement enzymatique (TE), de la flottation (F) et du blanchiment au H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (P) sont présentés. L'écart-type de blancheur et de ERIC représente la moyenne de tous les écart-types des résultats.

**TABLEAU 5.1: Étapes du procédé présentes dans les références et les témoins**

Étapes du procédé	Références	Témoins
Traitement enzymatique (TE)		x
Flottation (F)	x	x
Blanchiment au peroxyde (P)	x	x

**TABLEAU 5.2: Propriétés optiques des références et témoins de trois pâtes**

	Référence 1		Témoin 1	
	Blancheur (%ISO)	ERIC (ppm)	Blancheur (%ISO)	ERIC (ppm)
<b>TE</b>	58,5	277	59,1	255
<b>F</b>	60,5	160	60,8	163
<b>P</b>	66,7	150	67	153
	Référence 2		Témoin 2	
	Blancheur (%ISO)	ERIC (ppm)	Blancheur (%ISO)	ERIC (ppm)
<b>TE</b>	58,7	272	58,9	253
<b>F</b>	60,5	182	60,4	182
<b>P</b>	66,7	173	67,3	173
	Référence 3		Témoin 3	
	Blancheur (%ISO)	ERIC (ppm)	Blancheur (%ISO)	ERIC (ppm)
<b>TE</b>	56,4	273	56,3	267
<b>F</b>	58,2	192	58,1	184
<b>P</b>	66,1	200	66,4	195

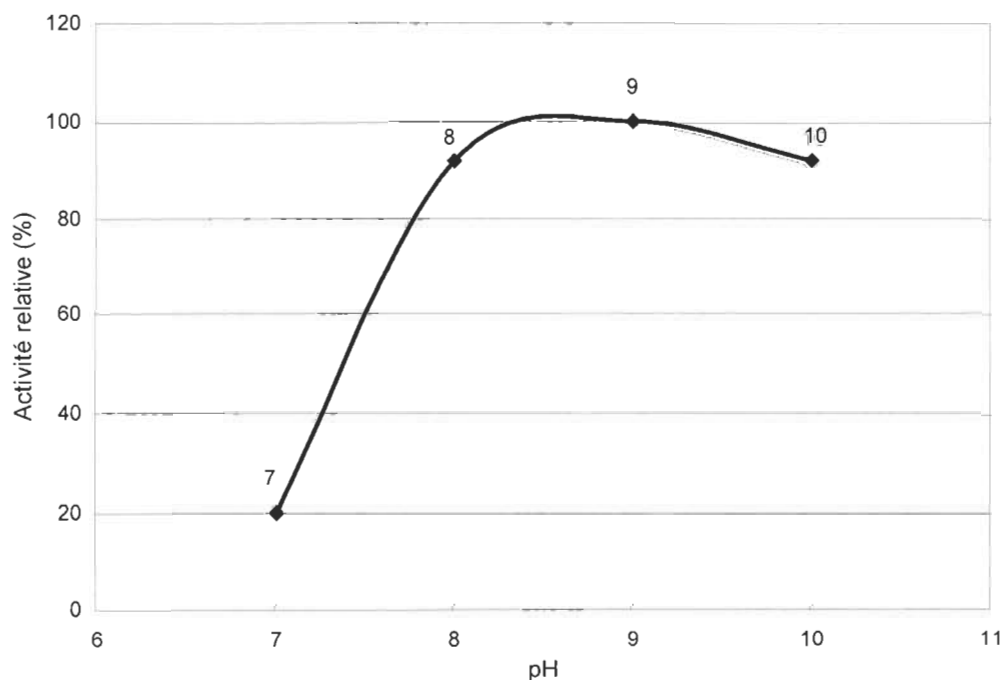
\* Écart-type : ± 0,3 %; ± 6 ppm

### 5.3 Optimisation des conditions de la lipase

Comme nous avons fixé la température, les conditions que nous avons fait varier afin de déterminer les conditions optimales de la lipase sont le pH, la concentration de l'enzyme et le choix d'un tensioactif ainsi que sa concentration.

#### 5.3.1 Effet du pH

Afin de déterminer les pH de la pâte qui allaient être expérimentés avec la lipase dans l'étape du traitement enzymatique, nous nous sommes basés sur le graphique de l'activité enzymatique relative en fonction du pH qui nous a été fourni par Innu Science (Figure 5.2).



**FIGURE 5.2: Activité relative de la lipase en fonction du pH (Innu Science)**

Comme nous pouvons le constater sur la figure 5.2, l'activité enzymatique relative est supérieure à 90% au pH entre 8 et 10. Nos premières séries d'expériences avec la lipase

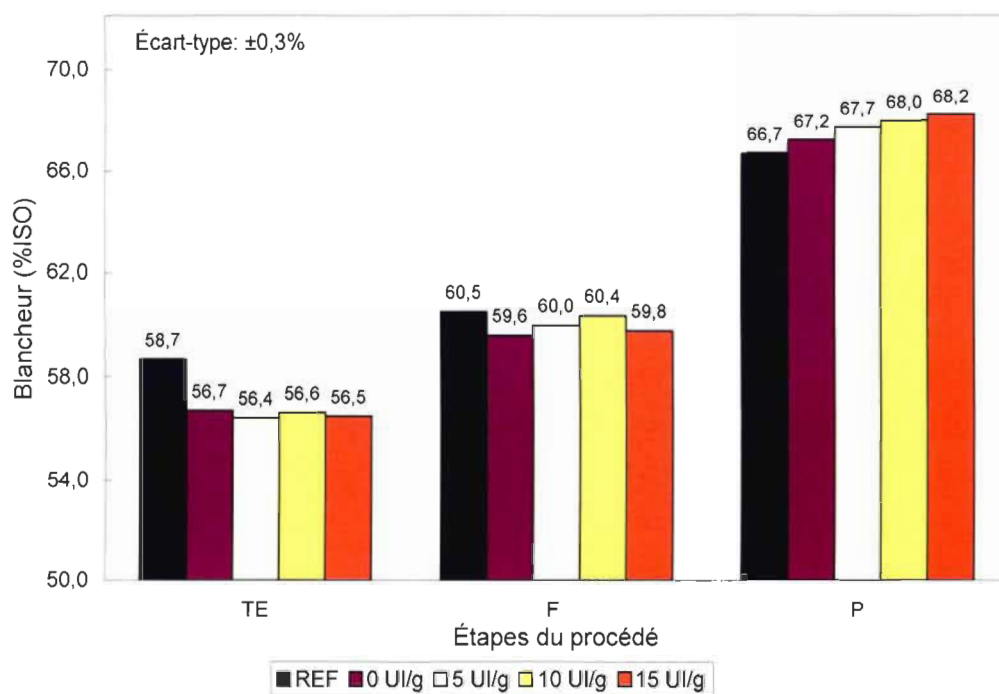
ont été effectuées aux pH 10, 9 et 8,5. Pour chaque pH, différentes concentrations de lipase ont été évaluées et seront discutées.

Les figures 5.3 et 5.4 présentent les résultats obtenus pour la lipase à pH 10. On remarque que l'ajustement du pH de la pâte à un niveau alcalin affecte la blancheur lors du traitement enzymatique comparativement à la référence. Le jaunissement alcalin est dû à une réaction du NaOH avec la lignine qui provoque un noircissement de la pâte et diminue le niveau de blancheur. Par contre, une partie de cette perte de blancheur est récupérée après l'étape de flottation pour les échantillons de 5 et 10 UI/g par l'enlèvement de l'encre résiduelle. La blancheur de ces échantillons est équivalente à la référence après la flottation.

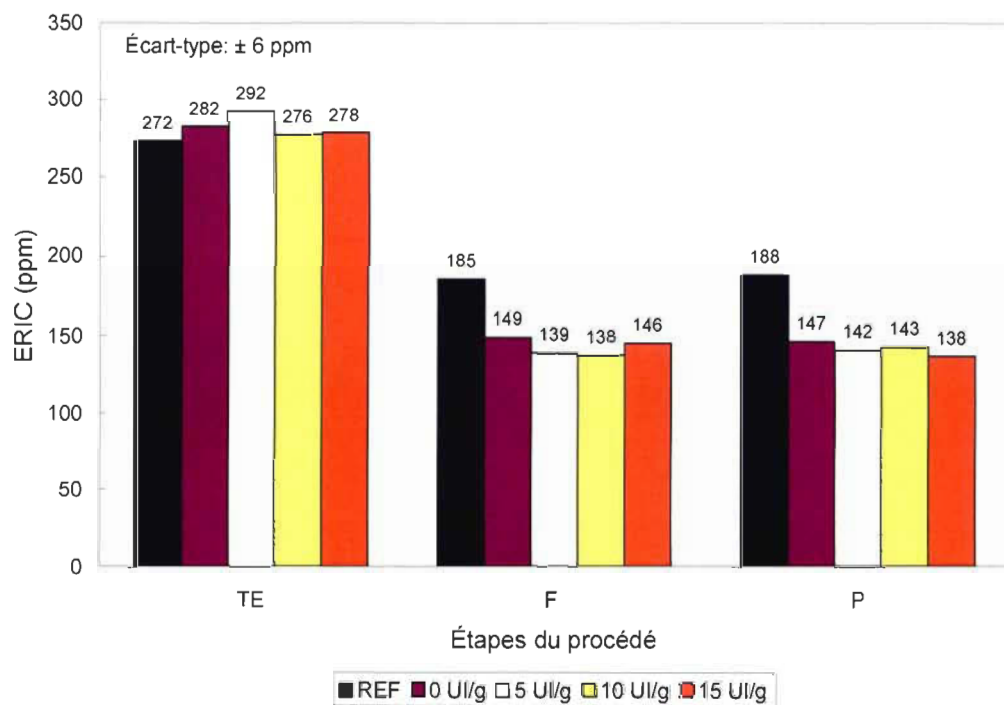
Selon Morkbak, l'hydrolyse des triglycérides provoqués par la lipase permet de décrocher suffisamment d'encre pour que l'étape de flottation puisse être efficace (Morkbak, 1999).

Dans les études de Morkbak (1998 et 1999), il a été rapporté que même une hydrolyse partielle des véhicules de l'encre à base d'huile végétale permettait d'obtenir un effet de désencrage. D'ailleurs, tous les ERIC finaux des échantillons ont été diminués d'environ 43 ppm comparativement à la référence.

Nous pouvons remarquer que le meilleur gain de blancheur a été obtenu avec la concentration de 15 UI/g de lipase, cette amélioration est de 1,5 %ISO pour une diminution d'ERIC de 50 ppm.



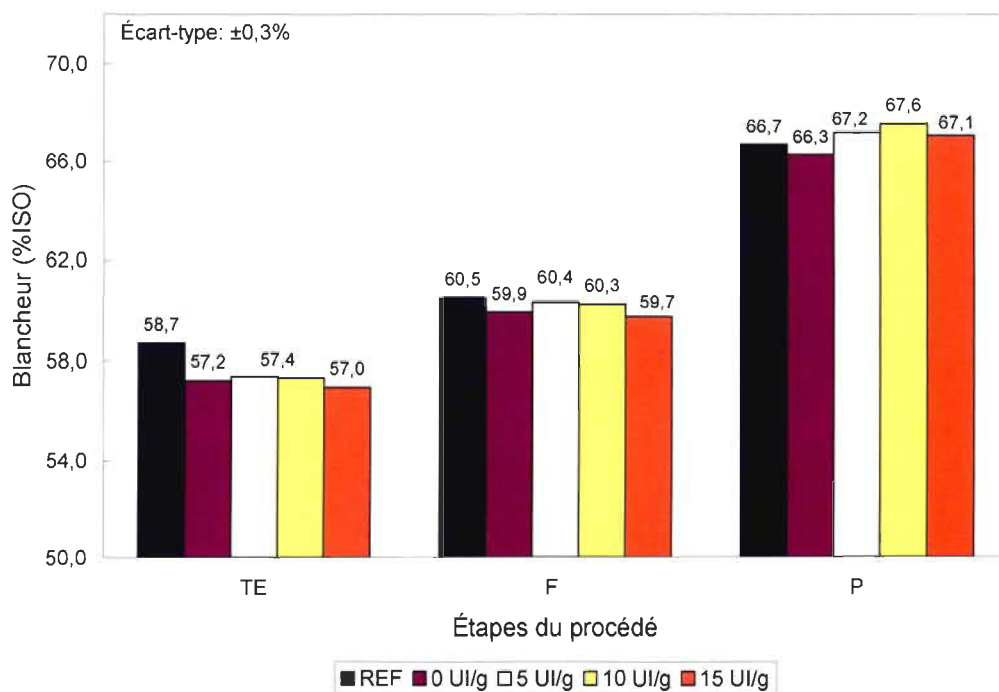
**FIGURE 5.3: Blancheur en fonction de la concentration de la lipase (pH ajusté à 10)**



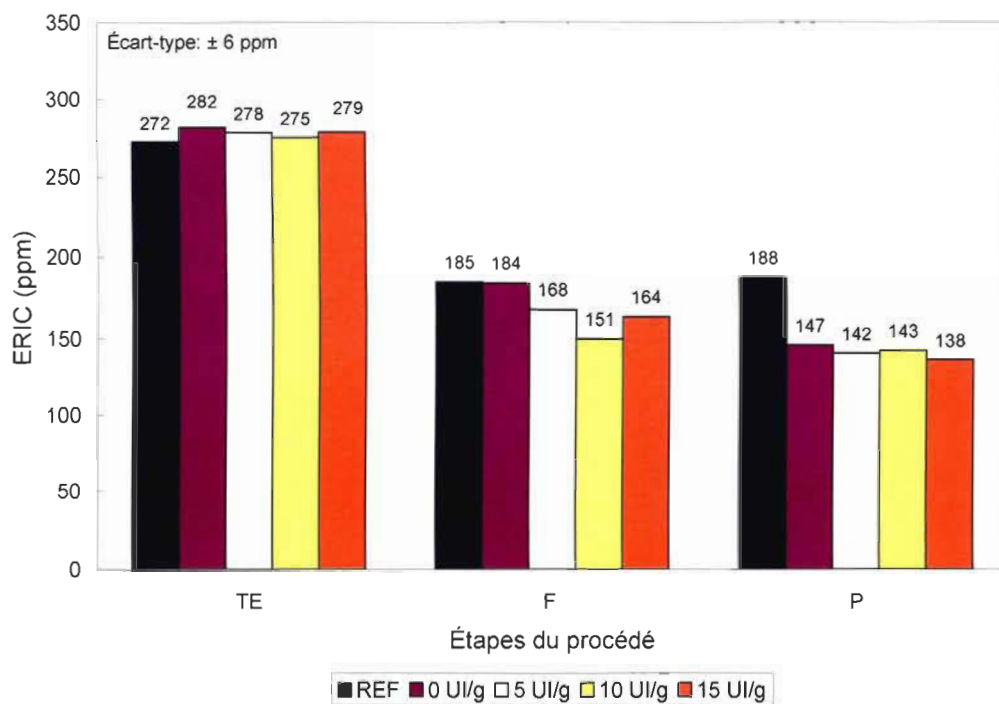
**FIGURE 5.4: ERIC en fonction de la concentration de la lipase (pH ajusté à 10)**

Les figures 5.5 et 5.6 présentent les niveaux de blancheurs et l'encre résiduelle effective obtenues pour les échantillons où le traitement enzymatique a été effectué à pH 9 avec la lipase. À pH 9, comme à pH 10, on remarque qu'il se produit du noircissement alcalin et que la blancheur perdue est récupérée à l'étape de flottation pour les traitements avec 0, 5 et 10 UI/g de lipase. Au niveau des blancheurs finales, la meilleure augmentation de blancheur après le blanchiment (0,9 %ISO) a été obtenue avec 10 UI/g pour une diminution d'ERIC de 45 ppm. La réduction de l'encre a été autant efficace pour tous les échantillons, soit d'environ 45 ppm.

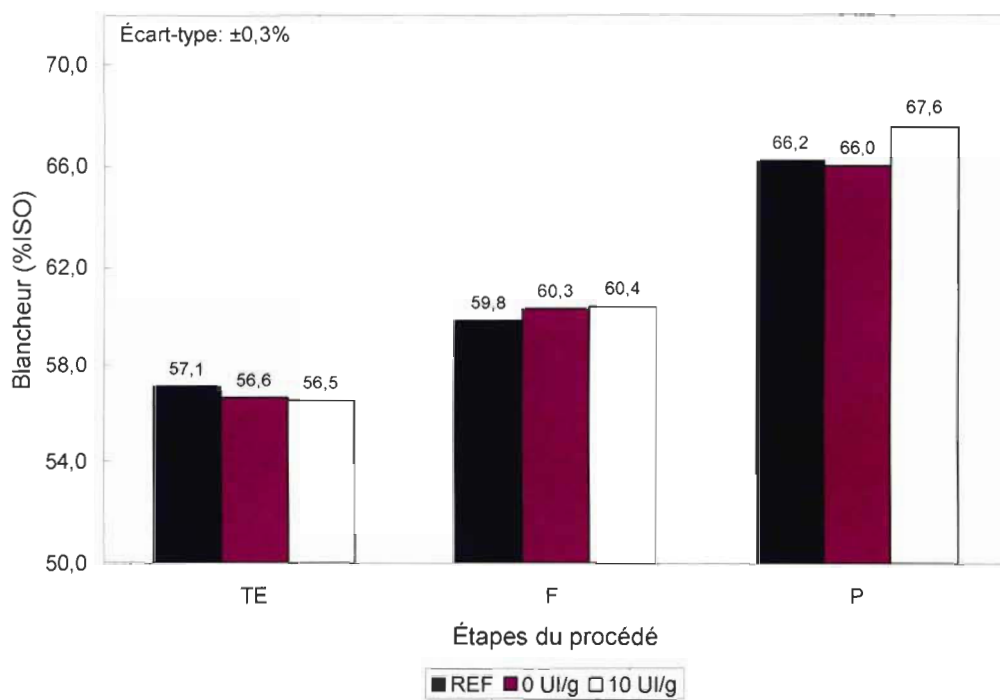
Les résultats de blancheur et de ERIC pour le pH 8,5 sont présentés dans les figures 5.7 et 5.8. À pH 8,5, il ne se produit pas de noircissement alcalin lors du traitement enzymatique contrairement aux pH 9 et 10.



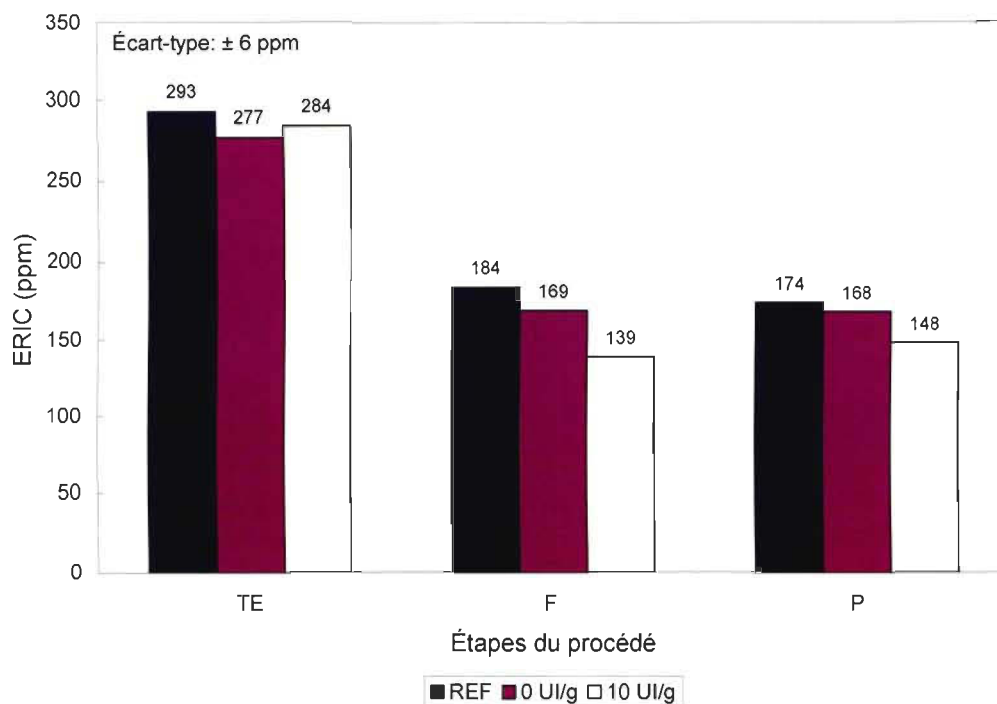
**FIGURE 5.5: Blancheur en fonction de la concentration de la lipase (pH ajusté à 9)**



**FIGURE 5.6: ERIC en fonction de la concentration de la lipase (pH ajusté à 9)**



**FIGURE 5.7: Blancher en fonction de la concentration de la lipase (pH ajusté à 8,5)**



**FIGURE 5.8: ERIC en fonction de la concentration de la lipase (pH ajusté à 8,5)**

D'ailleurs, puisqu'il n'y avait pas de perte de blancheur à rattraper, l'étape de flottation démontre même un gain de blancheur et une diminution de l'encre résiduelle pour l'ajout de 10 UI/g de lipase. Suite au blanchiment, on note une augmentation de 1,4 % de blancheur pour l'ajout de 10 UI/g de lipase pour une diminution d'ERIC de 26 ppm, mais aucun gain n'est observé pour l'ajustement de pH sans enzyme.

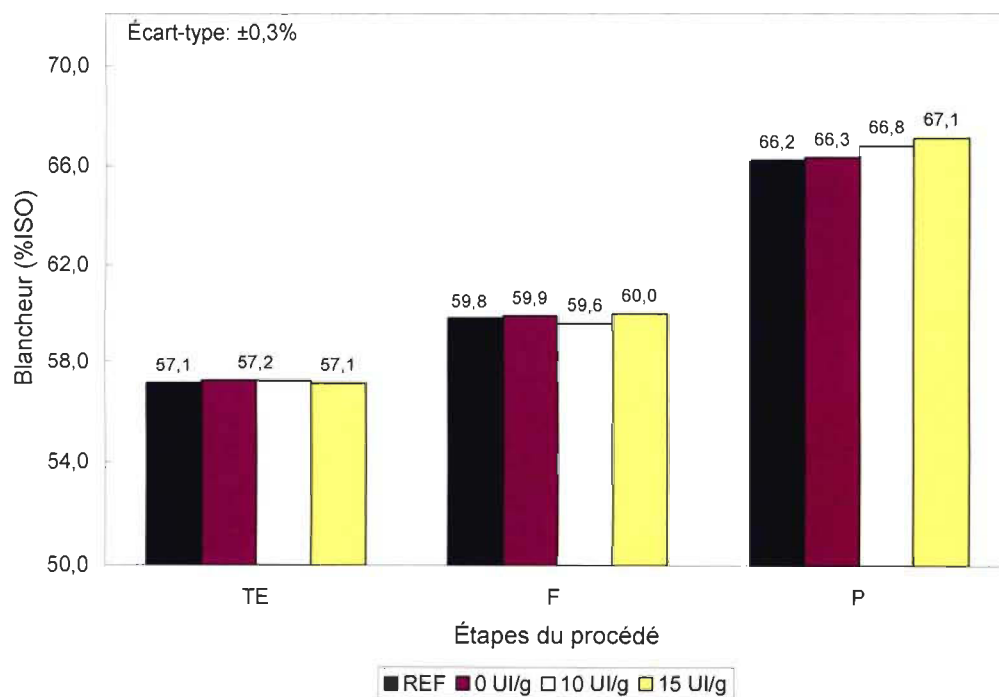
### 5.3.2 Sans ajustement de pH

En se basant sur les résultats de la figure 5.2, on remarque que l'activité enzymatique relative de la lipase chute radicalement lorsque le pH est inférieur à 8. Malgré ces résultats, nous avons quand même réalisé des expériences sans faire d'ajustement de pH puisque le pH des pâtes variait selon les stocks reçus de l'usine entre 5,8 à 7,5. Comme l'activité de la lipase a été mesurée avec le pNPP comme substrat, nous avons vérifié si la lipase avait une activité à pH 7 puisque le substrat est différent.

Les résultats obtenus sans ajustement de pH démontrent des améliorations des propriétés optiques, ce qui nous permet de conclure qu'une activité enzymatique existe pour des pH inférieurs à 8.

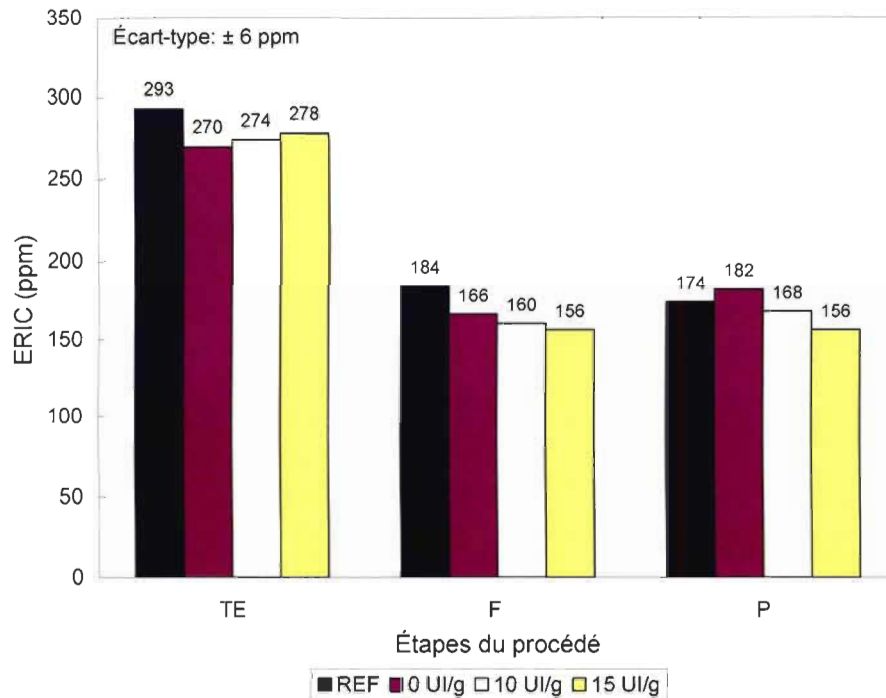
Les figures 5.9 et 5.10 présentent les résultats obtenus lorsque le pH de la pâte n'est pas ajusté. On remarque qu'il ne se produit pas de noircissement alcalin à l'étape du traitement enzymatique puisque nous n'avons pas ajouté de NaOH pour cette série d'expérimentation.

Au niveau de la blancheur, aucun gain n'a été observé suite à l'étape de flottation. Suite au blanchiment, le meilleur gain de blancheur a été de 0,9% pour 15 UI/g de lipase. Ce gain est soutenu par une diminution de 18 ppm de ERIC.



**FIGURE 5.9: Blancheur en fonction de la concentration de la lipase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,2)**





**FIGURE 5.10: ERIC en fonction de la concentration de la lipase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,2)**

## 5.4 Effet de la concentration de lipase

### 5.4.1 Variation des concentrations de lipase

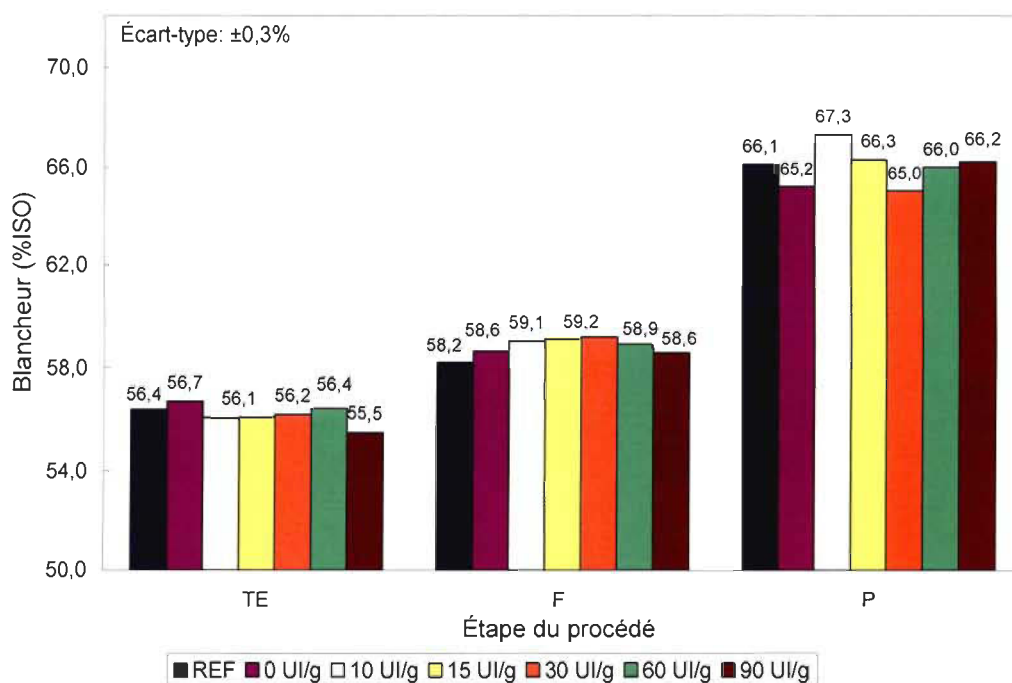
Les concentrations de lipase ont été évaluées en fonction des concentrations utilisées par Spiridon et de Andrade (2005), ils ont utilisé des concentrations de lipase de 10 et 15 UI/g et celle de Morkbak et Zimmermann (1998) à une concentration de 3 UI/g. Nous avons donc fixé les concentrations de lipase à 5, 10 et 15 UI/g de pâte sèche.

Dans les figures 5.3 à 5.10, on remarque que l'accroissement de la concentration de la lipase provoque une légère augmentation des gains de blancheur. De plus, l'encre résiduelle diminue avec l'augmentation de la concentration de la lipase.

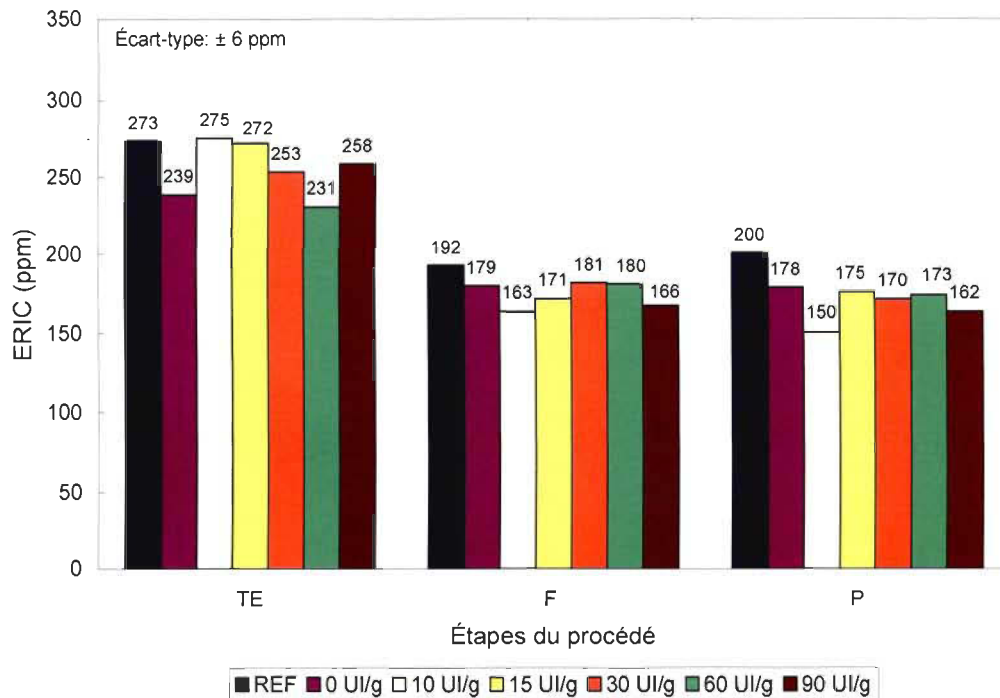
### 5.4.2 Concentrations excessives de lipase

Afin de vérifier si l'augmentation de la blancheur est fonction de la concentration de lipase, nous avons évalué l'augmentation des concentrations jusqu'à des niveaux extrêmes. Les figures 5.11 et 5.12 présentent les résultats obtenus pour des concentrations de 0 à 90 UI/g de lipase.

Ces expériences ont été effectuées à pH 8,5, où nous avons remarqué un gain pour la concentration de 10 UI/g. On observe une réduction de la blancheur finale pour l'échantillon sans enzyme comparativement à la référence. On remarque que l'augmentation de la blancheur et la diminution d'encre résiduelle est maximale avec 10 UI/g de lipase (1,2 %ISO et 50 ppm). L'augmentation de la concentration de lipase ne crée pas de gain supplémentaire, ce qui suggère qu'un effet limitant se produit à cette concentration. En effet, il peut se produire une inhibition de l'enzyme lorsque tous les sites actifs sont saturés (Knutson, 2004b).



**FIGURE 5.11: Blancheur en fonction de concentration excessive de lipase (pH ajusté à 8,5)**



**FIGURE 5.12: ERIC en fonction de concentration excessive de lipase (pH ajusté à 8,5)**

### 5.5 Conditions préconisées

Le choix des conditions préconisées pour le traitement enzymatique avec la lipase a été établi en fonction de nos résultats précédents, mais aussi selon des conditions qui sont réalisables dans un milieu industriel. Nos meilleurs résultats ont été obtenus à pH 10 et 8,5, par contre, le niveau de blancheur obtenu sans ajustement de pH ne justifie pas d'accroître le pH à ces deux niveau. Pour des raisons écologiques et économiques, nous avons choisi de ne pas procéder à l'ajustement du pH de la pâte. Sans l'ajout de caustique, le taux d'alcali résiduel est moindre et le traitement sera moins coûteux pour l'industrie (Morkbak, 1998). En ce qui concerne la concentration de lipase préconisée, nous avons choisi 10 UI/g de pâte sèche. Bien qu'avec 15 UI/g de lipase des gains de blancheur plus élevée qu'à 10 UI/g aient été obtenus, le gain de blancheur n'était pas suffisamment élevé pour justifier une augmentation des coûts que représentent 5 UI/g supplémentaire dans une optique industrielle. De plus, des gains avoisinant 1,0% de blancheur finale ont été obtenus à tous les pH avec 10 UI/g de lipase.

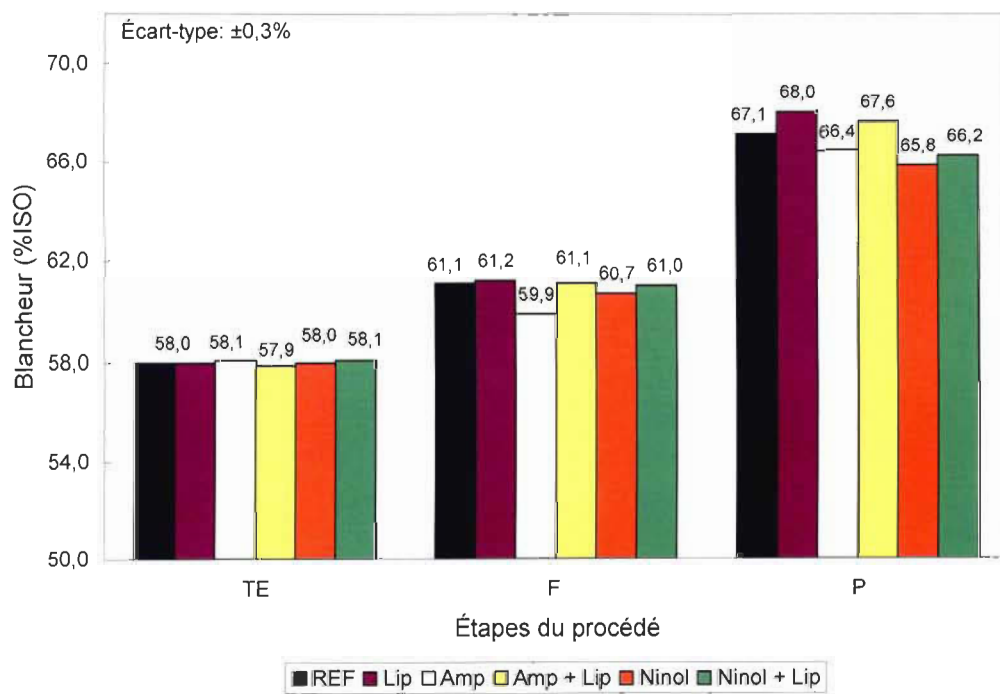
## 5.6 Effet de l'ajout de tensioactifs

### 5.6.1 Choix de l'étape d'ajout du tensioactif

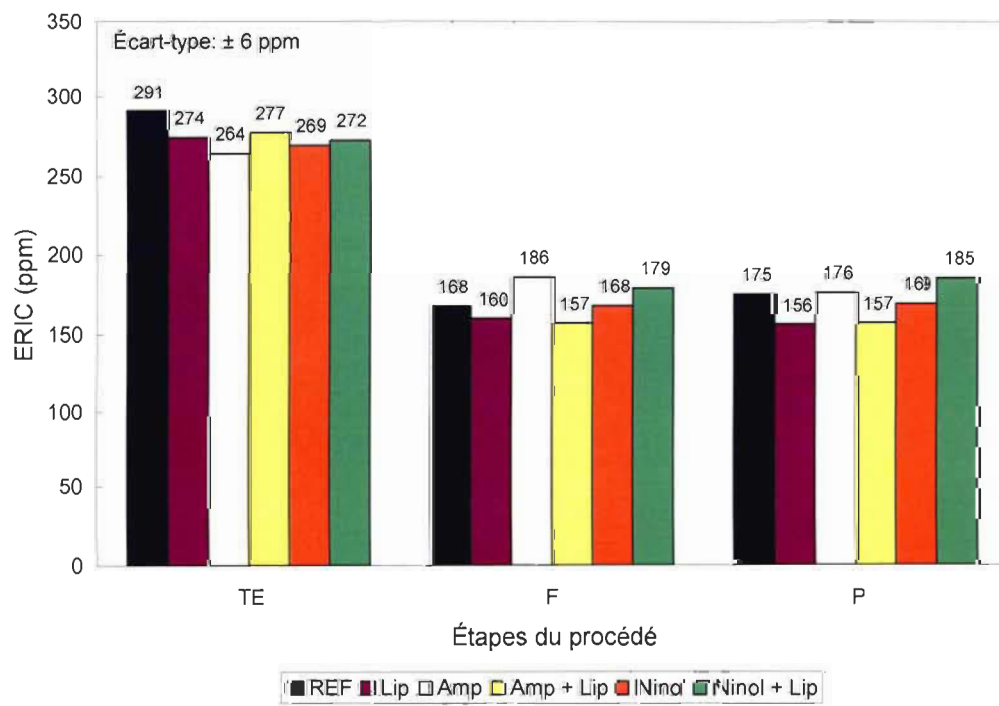
Premièrement, nous avons déterminé l'étape du procédé où l'ajout d'un tensioactif serait le plus bénéfique pour l'amélioration des propriétés optiques, lors du traitement enzymatique ou lors de la flottation. Nous supposons que l'action du tensioactif dans la même étape que l'enzyme diminuera l'énergie de surface de la fibre et favorisera la diffusion de l'enzyme à travers les fibres. Si le tensioactif est ajouté à la flottation, nous supposons que son action facilitera l'accrochage des contaminants aux bulles d'air et favorisera le retrait de ces contaminants de la suspension (Wolfgang, 2004). Pour considérer que le tensioactif a eu un effet positif sur les propriétés optiques, le gain observé doit être supérieur à celui de la lipase.

Le choix de l'étape d'ajout a été vérifié avec deux types de tensioactifs différents, l'Amphosol 810B (Amp) qui est amphotérique du type capramidopropyl bétaine et le Ninol CC (Ninol) qui est non-ionique éthoxylé de courtes chaînes. Ils ont été ajoutés au traitement enzymatique en combinaison avec la lipase à l'étape du traitement enzymatique et aussi lors de la flottation suite à un traitement enzymatique avec 10 UI/g de lipase. Une concentration de 0,1% de chacun des tensioactifs a d'abord été utilisée pour les premières expériences. Ce choix de concentration a été fait en fonction de travaux dans la littérature où des enzymes étaient utilisés en combinaison avec des tensioactifs (Zhang et al., 2008; Moerkbak, 1999).

Les figures 5.13 et 5.14 présentent les essais où les tensioactifs ont été utilisés dans le traitement enzymatique. Pour les expériences sans enzyme, on observe une diminution de la blancheur finale d'environ 1,0 %ISO, mais cette diminution n'a pas d'incidence sur les valeurs de ERIC.



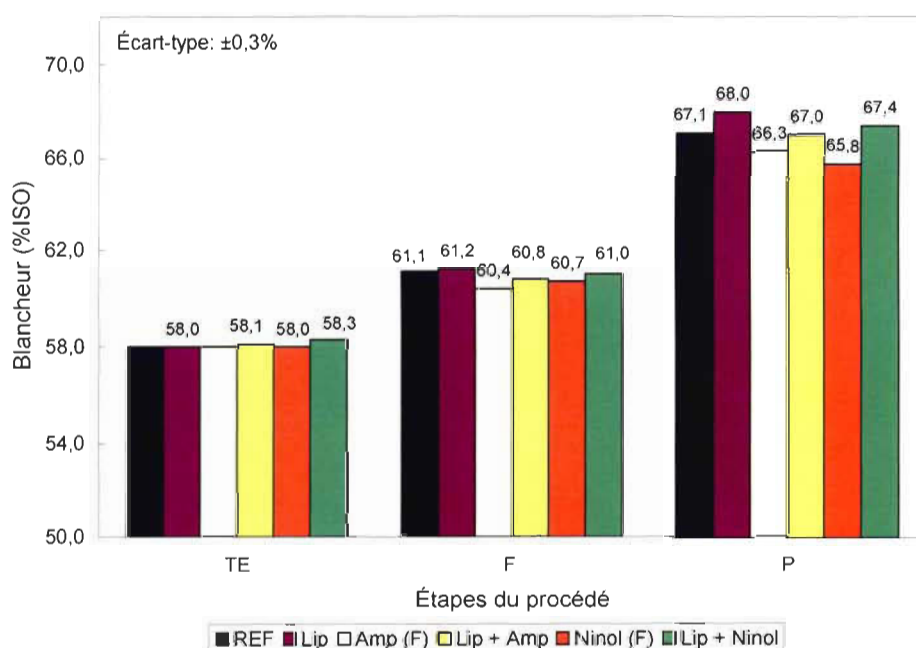
**FIGURE 5.13: Blancheur en fonction de l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810B ou de Ninon CC dans les traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5)**



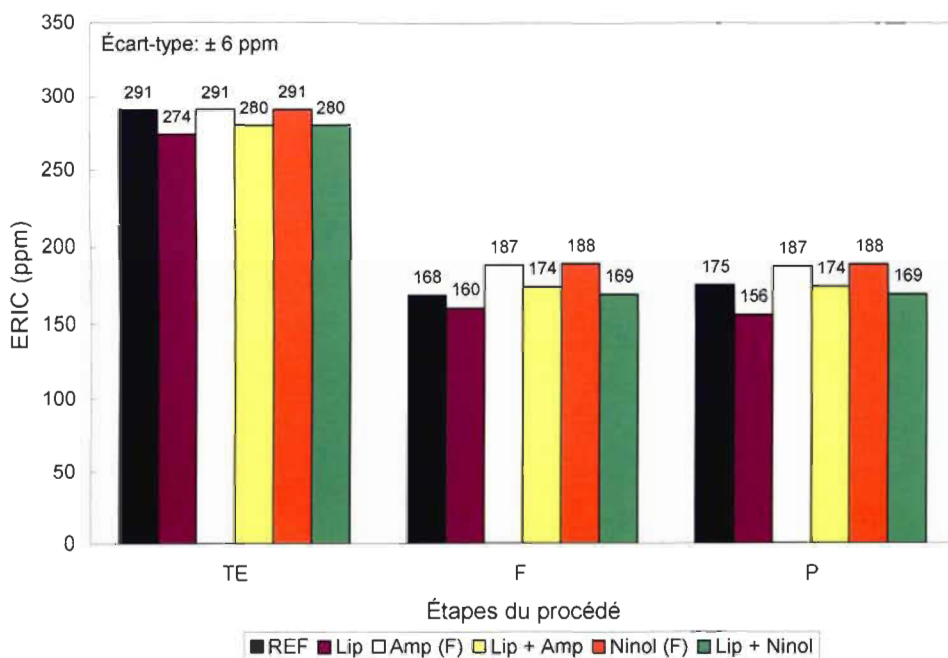
**FIGURE 5.14: ERIC en fonction de l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810B ou de Ninol CC dans les traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5)**

Une diminution de 18 ppm de la valeur d'ERIC a été obtenue pour la combinaison de lipase avec l'amphosol 810B en comparaison de la référence. Cependant, la blancheur obtenue est comparable ce qui a été obtenu avec la lipase.

Dans le cas de l'ajout des tensioactifs à l'étape de la flottation, on remarque une diminution de la blancheur finale lorsqu'il n'y avait pas de lipase dans le traitement enzymatique et cela se produit pour les deux tensioactifs (Figure 5.15). De plus, la flottation avec les tensioactifs n'a pas été plus efficace pour retirer l'encre que la référence (Figure 5.16). La combinaison d'un traitement enzymatique avec la lipase suivi d'une flottation avec un tensioactif ne démontre pas de gain de blancheur ou de diminution d'encre résiduelle à cette concentration.



**FIGURE 5.15: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810 B et de Ninol CC dans la flottation suite à différents traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5)**



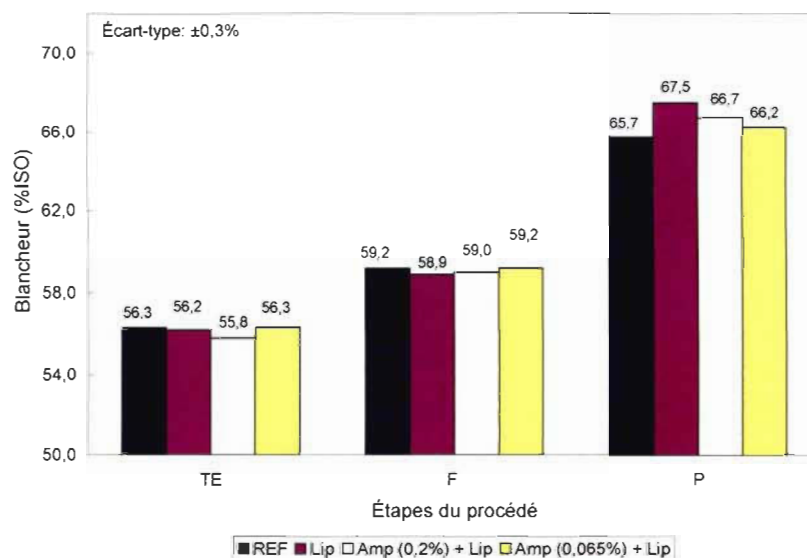
**FIGURE 5.16: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,1% d'Amphosol 810 B et de Ninol CC dans la flottation suite à différents traitements enzymatiques (pH de la pâte : 7,5)**

Bien que les résultats de l'ajout de tensioactif dans le traitement enzymatique ou dans la flottation n'aient pas démontré d'amélioration de propriétés optiques, nous avons choisi de favoriser l'ajout des tensioactifs dans le traitement enzymatique. Ce choix est en fonction des résultats de Vyas Santosh (2003) et de Moerkbak (1999) qui ont démontré que le tensioactif abaissait l'énergie de surface des fibres et favoriserait la diffusion de l'enzyme dans les fibres.

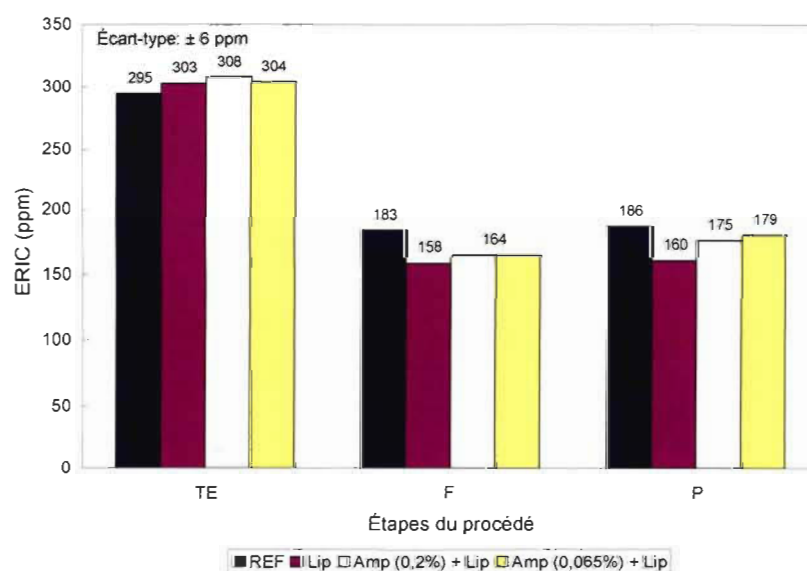
### 5.6.2 Variation de la concentration des tensioactifs

Suite à notre choix d'ajouter le tensioactif au traitement enzymatique, nous avons évalué l'effet de leur concentration sur les propriétés optiques, les tensioactifs étudiés sont l'Amphosol 810B, le Ninol CC, le Berol 840 et de Deteric ODP-LF. Dans la première série d'essais sur la concentration des tensioactifs, nous avons évalué des concentrations de 0,065% à 0,2% pour les tensioactifs Amphosol 810B et Ninol CC car la concentration 0,1% a déjà été évalué dans la section 5.6.1. Les résultats de ces expériences sont

présentés dans les figures 5.17 à 5.20. L'ajout de 10 UI/g de lipase a démontré un gain de la blancheur finale de 1,8 %ISO et une diminution de 23 ppm de ERIC. L'ajout d'Amphosol 810B, n'a eu aucun effet positif sur les propriétés optiques (Figures 5.17 et 5.18).



**FIGURE 5.17: Blancheurs obtenues suite à l'ajout d'Amphosol 810B dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1)**



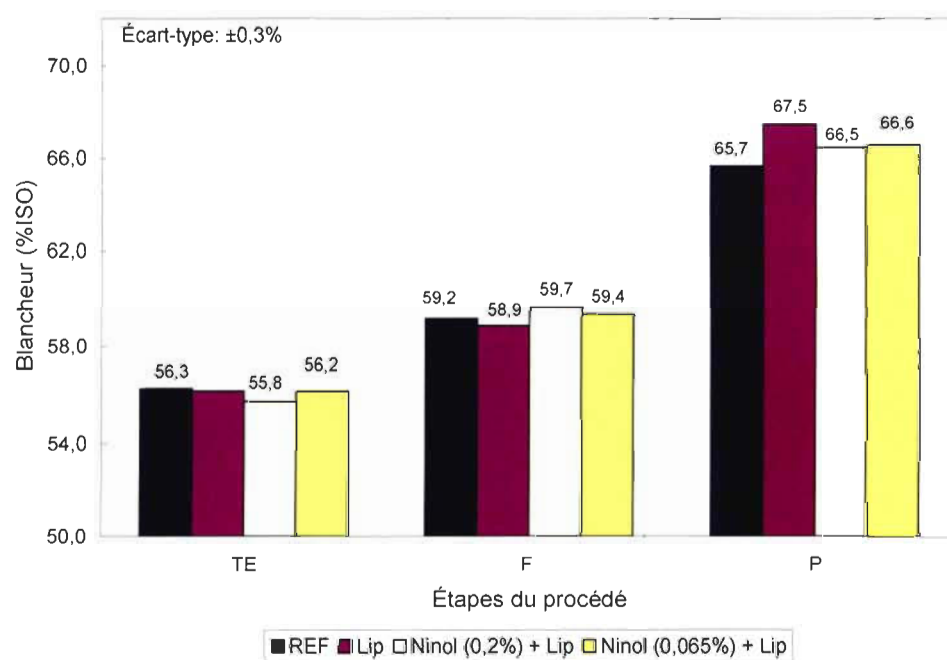
**FIGURE 5.18: ERIC obtenus suite à l'ajout d'Amphosol 810B dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1)**



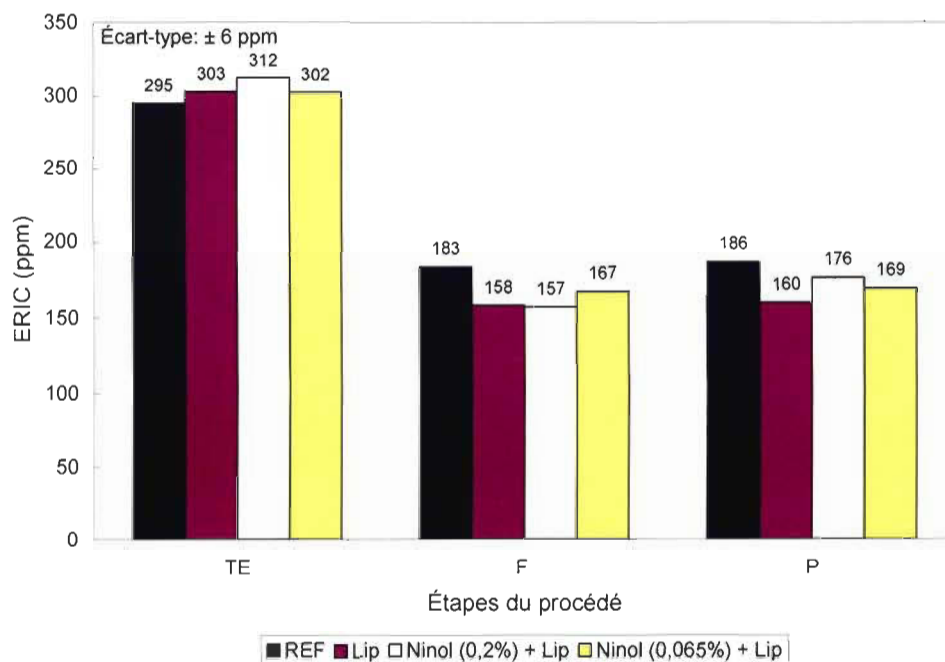
Dans le cas du Ninol CC, aucun gain supplémentaire de blancheur ou diminution significative de l'encre résiduelle n'a été observé pour les deux concentrations de ce dernier au niveau de la blancheur finale. (Figures 5.19 et 5.20)

Suite aux résultats obtenus à la concentration de 0,065% et 0,2% n'avaient aucun effet positif sur les propriétés optiques, nous avons réalisés une série d'essais pour des concentrations de 0,005%, 0,01% et 0,015%. Au cours de cette série d'expérimentations, nous avons évalué à ces concentrations, l'Amphosol 810B, Berol 840 (840) et le Detric ODP-LF (ODP).

Les résultats de blancheur et de concentration d'encre résiduelle effective pour la concentration 0,015% sont présentés dans les figures 5.21 et 5.22. Un gain de 1,2% de blancheur a été obtenu avec l'ajout de lipase seule.



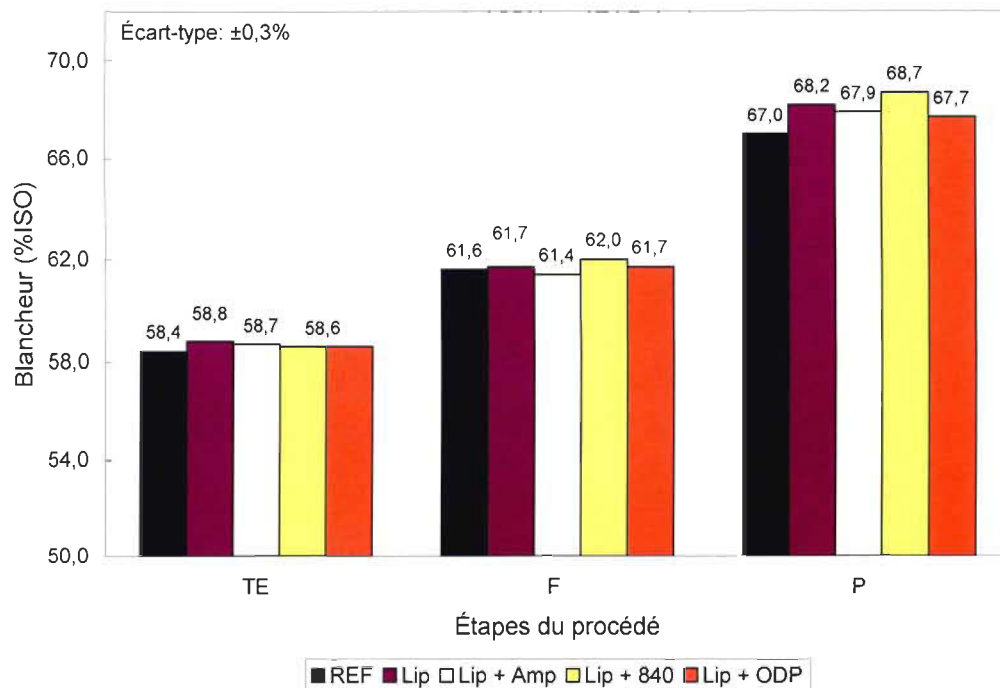
**FIGURE 5.19: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de Ninol CC dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1)**



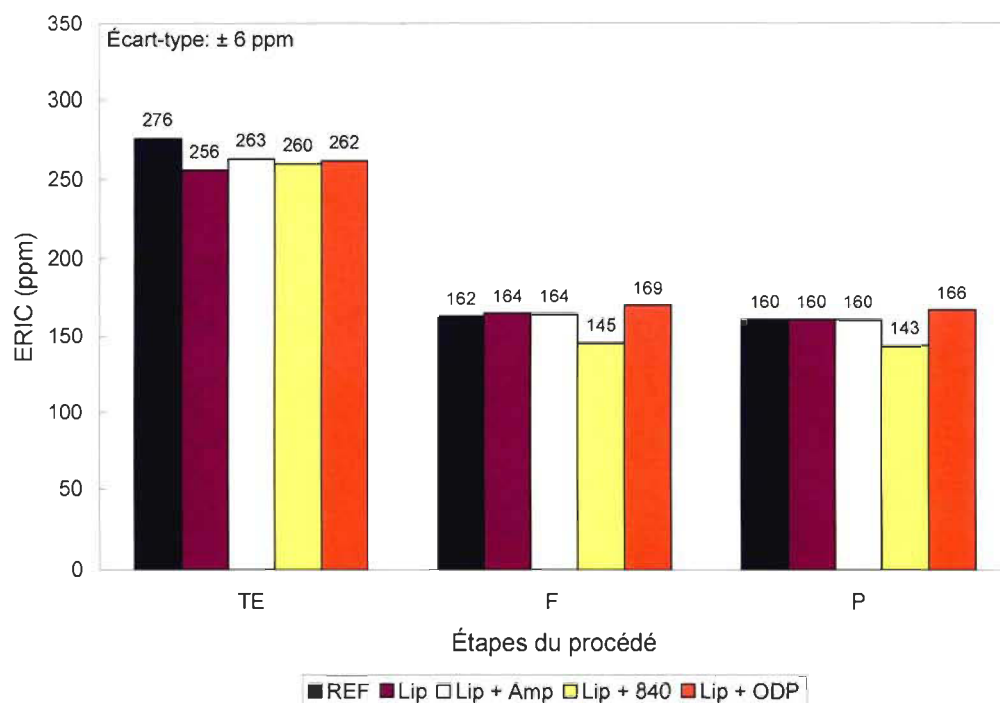
**FIGURE 5.20: ERIC obtenu suite à l'ajout de Ninol CC dans le traitement enzymatique (pH de la pâte : 7,1)**

L'ajout de Berol 840 à la lipase a montré un gain supplémentaire à celui obtenu avec la lipase seule et ce gain est de 1,7 %ISO en comparaison de la référence (Figure 5.21). Cependant, si on compare les blancheurs finales de la lipase et en combinaison avec le Berol 840, le gain n'est pas significatif car il n'est pas supérieur au double de l'écart-type. En comparant les blancheurs après les étapes de flottation et de blanchiment, on remarque que l'augmentation se produit à l'étape de blanchiment. Aussi, la seule diminution d'encre résiduelle effective finale a été obtenue avec le Berol 840, elle est de 17 ppm.

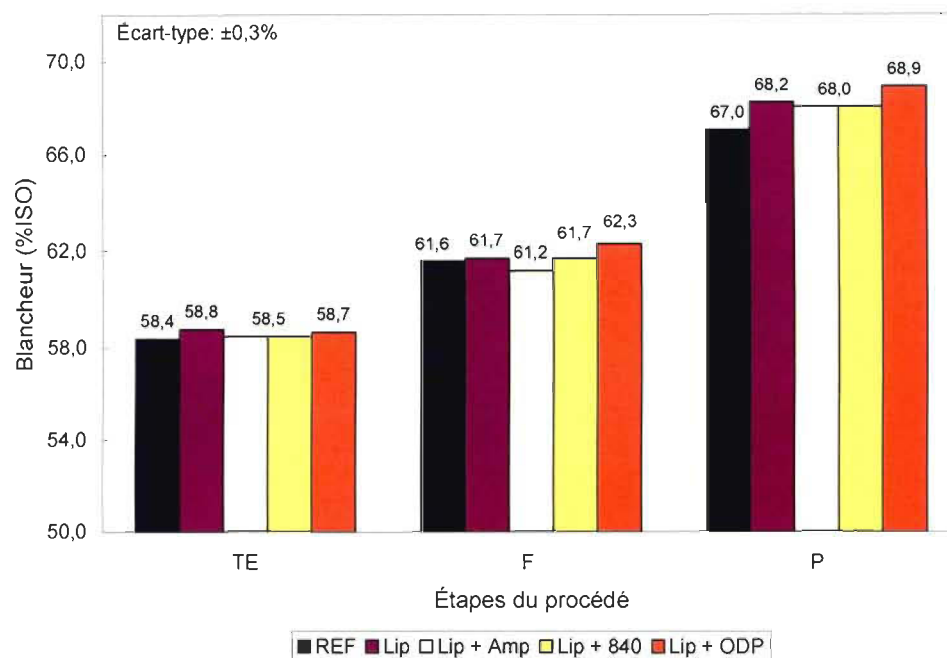
Avec l'ajout de 0,01% de chacun des tensioactifs, le detric ODP-LF a été le seul à démontré un gain supplémentaire à la lipase (0,7 %ISO de plus) pour un gain de blancheur finale de 1,9 %ISO. Également, la seule diminution d'encre résiduelle effective finale a été observée pour cet échantillon, elle est de 19 ppm (Figures 5.23 et 5.24).



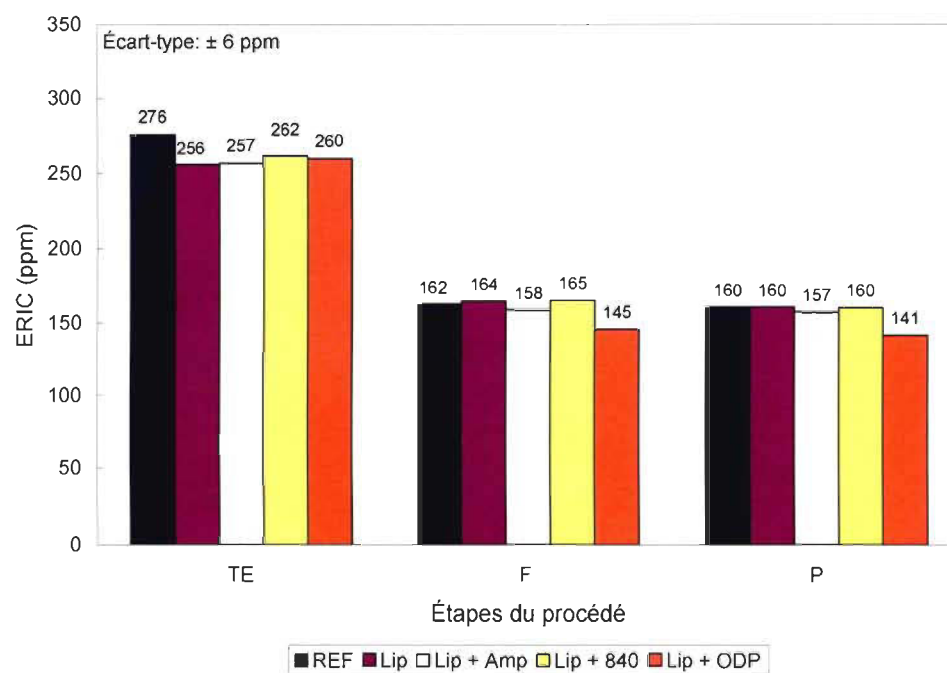
**FIGURE 5.21: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,015% des tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF ( pH de la pâte : 6,2)**



**FIGURE 5.22: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,015% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte : 6,2)**

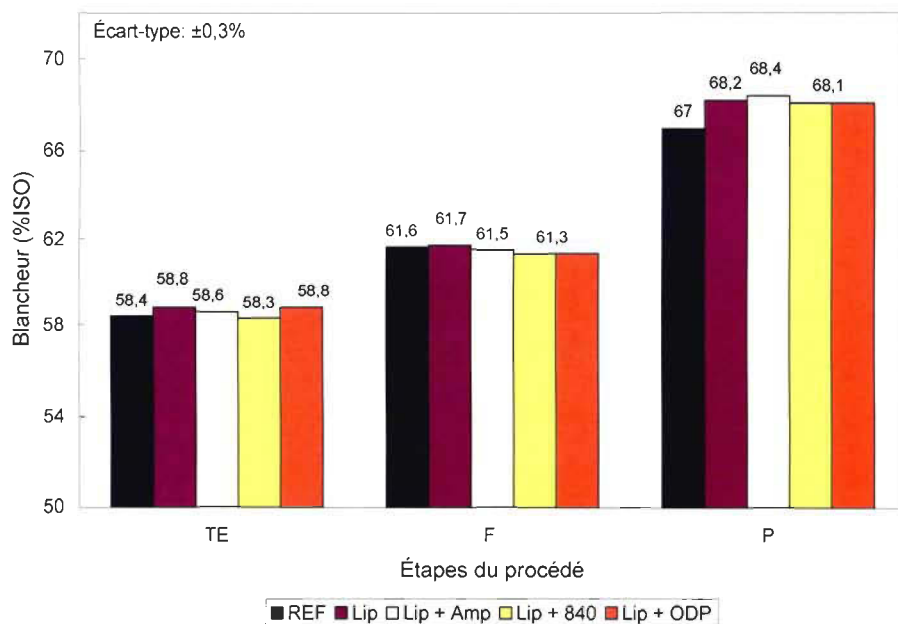


**FIGURE 5.23: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,01% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte : 6,2)**

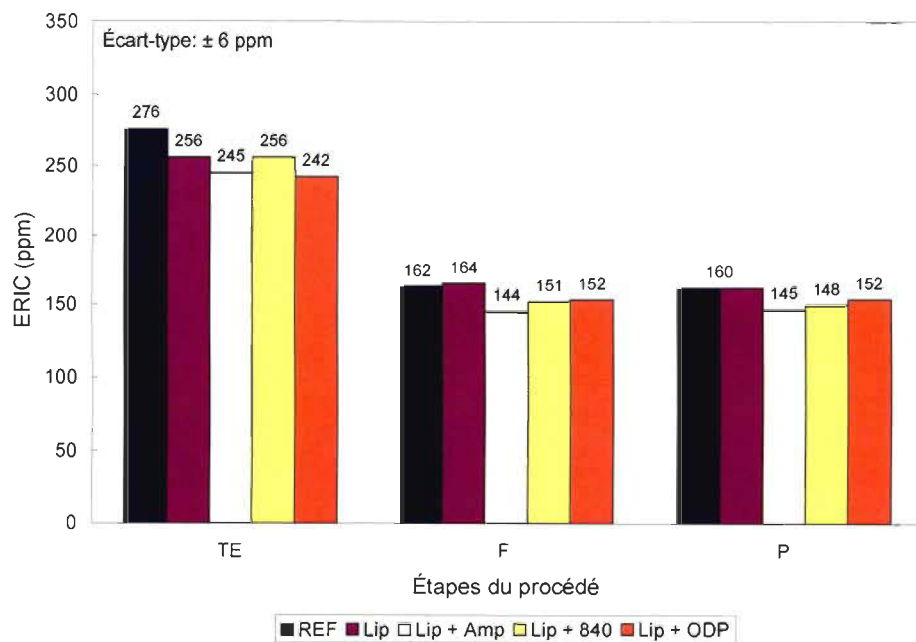


**FIGURE 5.24: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,01% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte : 6,2)**

Les résultats présentés dans les figures 5.25 et 5.26 ne démontrent aucune amélioration des propriétés optiques suite à l'ajout de 0,005% de chacun des tensioactifs.



**FIGURE 5.25: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,005% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte : 6,2)**



**FIGURE 5.26: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,005% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF (pH de la pâte : 6,2)**

L'action de la lipase sur les encres à base d'huile végétale est différente selon la grosseur de la particule d'encre. La lipase est plus efficace sur les particules de petits ou moyens diamètres que les larges particules. Selon plusieurs études, des gains de blancheur ainsi que des diminutions d'encres résiduelles sont observés (Morkbak, 1998; Morkbak, 1999; (Spiridon, 2005).

### **5.6.3 Choix d'un tensioactif**

Selon les résultats présentés dans les sections précédentes, nous avons éliminé les tensioactifs Amphosol 810B, Ninol CC et le Berol 840. Par contre, le Deteric ODP-LF a démontré des gains supérieurs à ceux obtenus avec la lipase pour une concentration de 0,01 %. Nous supposons que ce tensioactif est le seul à avoir baissé les énergies interfaciales et changer suffisamment les liaisons entre interfaces pour changer leur nature afin de décrocher les particules d'encre des fibres (Da Silva, 2004). Des expériences avec le Deteric ODP-LF ont été réalisées avec la combinaison de lipase et de LMS, ces résultats sont présentés dans le chapitre 7.

## **5.7 Conclusion**

Les conditions optimisées de la lipase que nous avons retenues sont une concentration de 10 UI/g sans ajuster le pH de la pâte et un seul tensioactif a été efficace, le Deteric ODP-LF à une concentration de 0,01%. L'action de la lipase dans ses conditions permet une amélioration de la blancheur d'au moins 1,0 %ISO. La meilleure augmentation de blancheur obtenue avec la lipase est de 1,4% au pH 8,5 et de 1,9% avec l'ajout de Deteric ODP-LF.

Nos démontrent que l'action de la lipase permet le décrochage de l'encre, car des améliorations de blancheur et des diminutions d'encre résiduelle ont été observées après l'étape de flottation. L'action de l'enzyme a changé la taille des particules d'encres afin

que la flottation puisse les retirer plus facilement de la suspension. De plus, ce décrochage d'encre permet une meilleure action du  $H_2O_2$  lors du blanchiment (Morkbak, 1998). Nous avons également démontré que si un ajustement de pH alcalin était réalisé, le noircissement alcalin pouvait être résorbé par l'action de l'enzyme.

## CHAPITRE 6

### OPTIMISATION DU LMS

#### 6.1 Activité enzymatique de la laccase

##### 6.1.1 Détermination de l'activité enzymatique de la laccase

L'activité de la laccase a été mesurée en triplicata et une régression linéaire des mesures d'absorbance en fonction du temps a été calculée pour chacun des essais. Les pentes ainsi que les activités calculées selon l'équation 4.2 sont présentées dans le tableau 6.1. L'activité enzymatique moyenne est de  $116 \pm 7 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ .

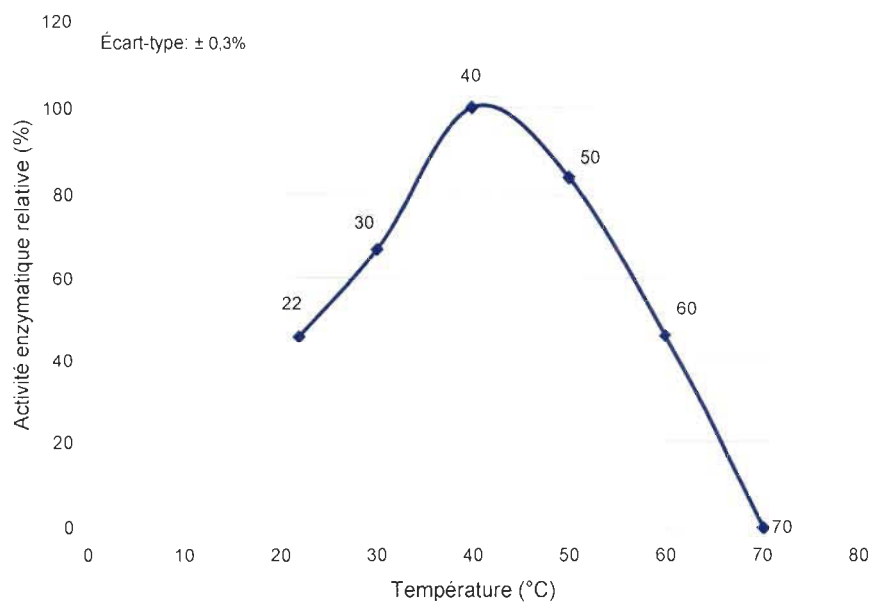
**TABELAU 6.1: Activité enzymatique de la laccase obtenue pour trois essais**

Essai	Pente	Activité ( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ )
1	0,0433	108
2	0,0473	118
3	0,0483	121
Moyenne	0,0463	116
Écart-type	0,0026	7
Écart-type relatif		6%

##### 6.1.2 Détermination de l'activité enzymatique en fonction de la température

Sur la figure 6.1, on remarque qu'à partir de 22°C l'activité enzymatique augmente jusqu'à atteindre son maximum à 40°C et diminue jusqu'à ce qu'elle soit nulle à 70°C. La température des expériences ayant été fixée à 50°C, l'activité n'est pas maximale, mais représente tout de même une valeur relative supérieure à 80%.





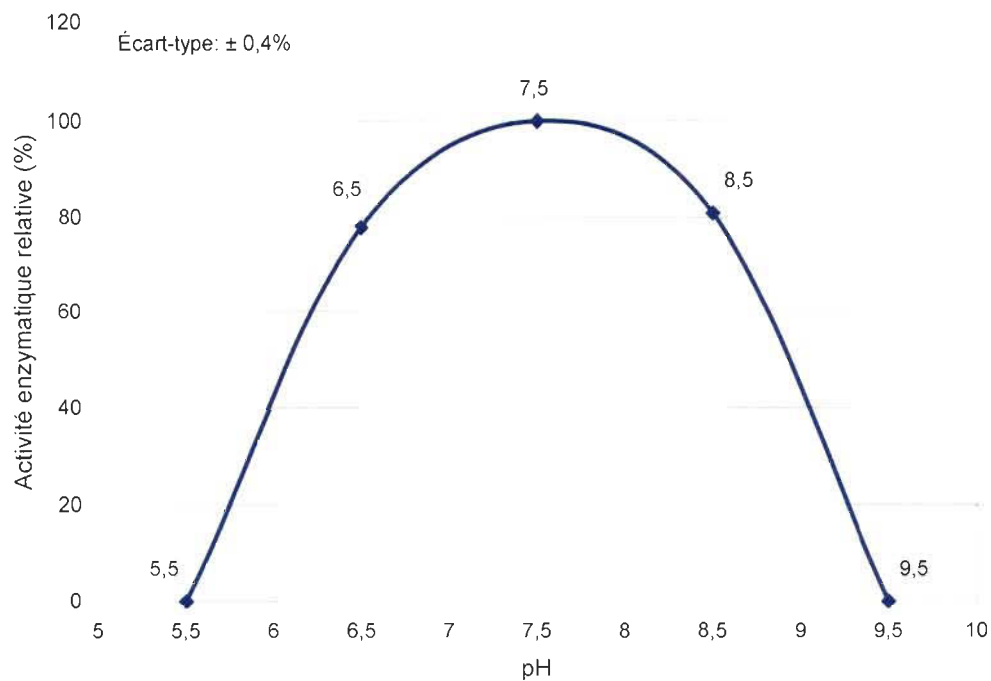
**FIGURE 6.1: Activité enzymatique relative de la laccase en fonction de la température**

### 6.1.3 Détermination de l'activité enzymatique de la laccase en fonction du pH

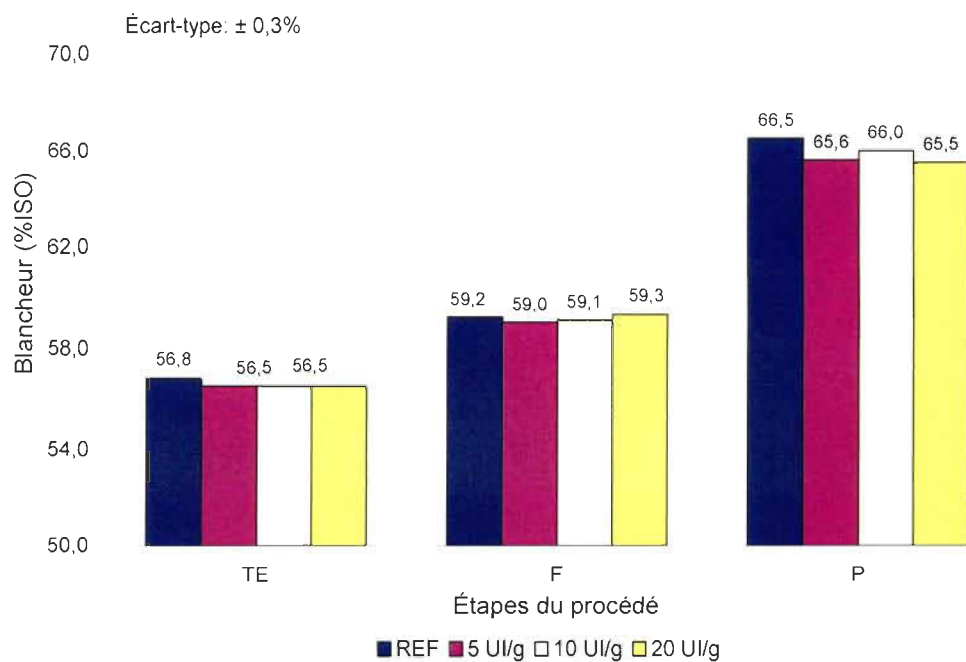
Sur la figure 6.2, l'activité enzymatique relative de la lipase est optimale à pH 7,5 et n'a plus d'activité aux pH 5,5 et 9,5. Pour les pH 6,5 et 8,5, les activités relatives sont de 78 et 81%.

## 6.2 Effet de la concentration de la laccase

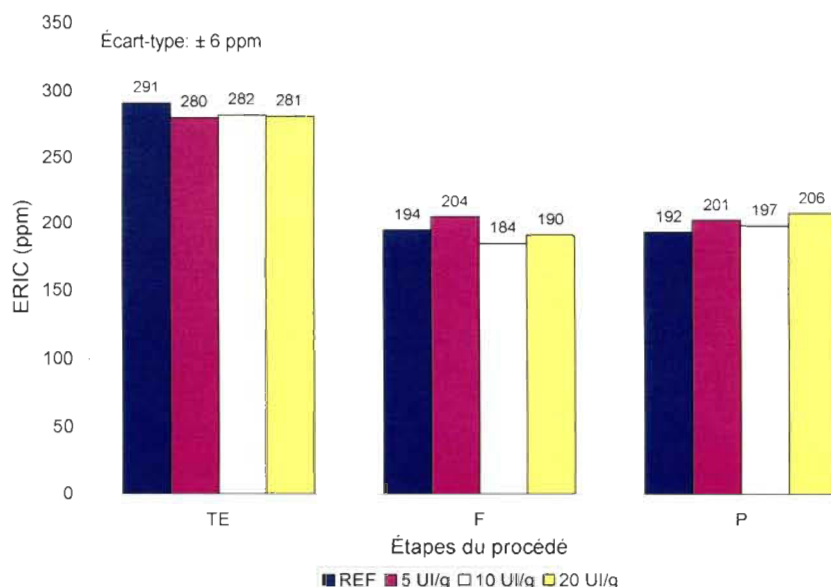
Selon certaines études réalisées avec la laccase, la concentration qui est décrite comme optimale pour effectuer du bio blanchiment est de 20 UI/g (Garcia et al., 2003; Valls, 2009). Dans un premier temps, les concentrations expérimentales de la laccase ont été fixées à 5, 10 et 20 UI/g. La première série d'expériences a été effectuée sans ajustement de pH et le pH de la pâte utilisée était de 7,5, ce qui est l'optimum d'activité déterminé précédemment avec la syringaldazine. Ces résultats sont présentés dans les figures 6.3 et 6.4, cependant, aucune amélioration des propriétés optiques n'a été observée.



**FIGURE 6.2: Activité enzymatique relative de la laccase en fonction du pH**



**FIGURE 6.3: Blancheur en fonction de la concentration de la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,5)**

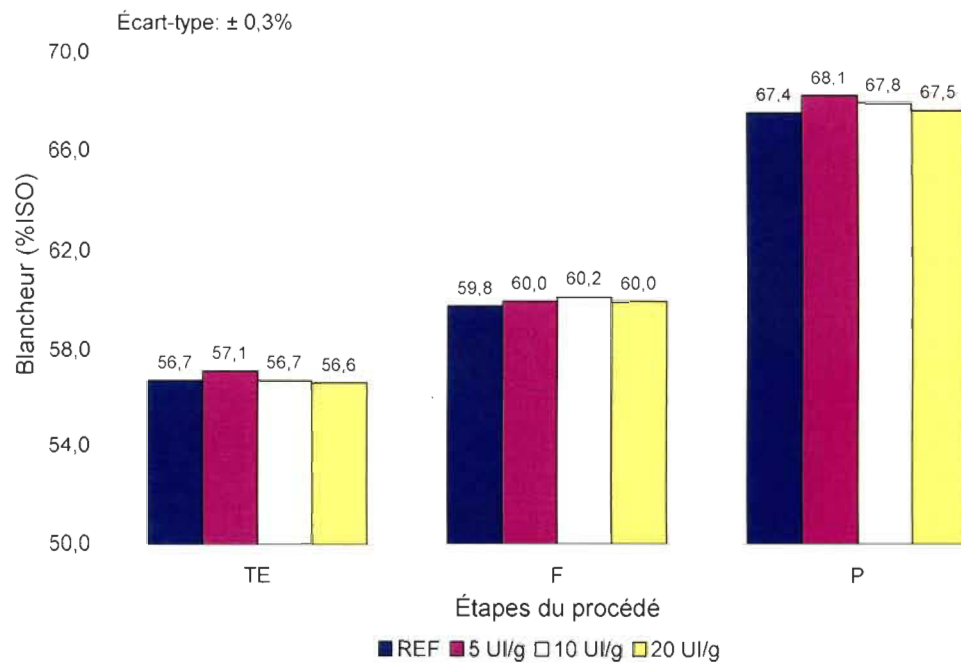


**FIGURE 6.4: ERIC en fonction de la concentration de la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 7,5)**

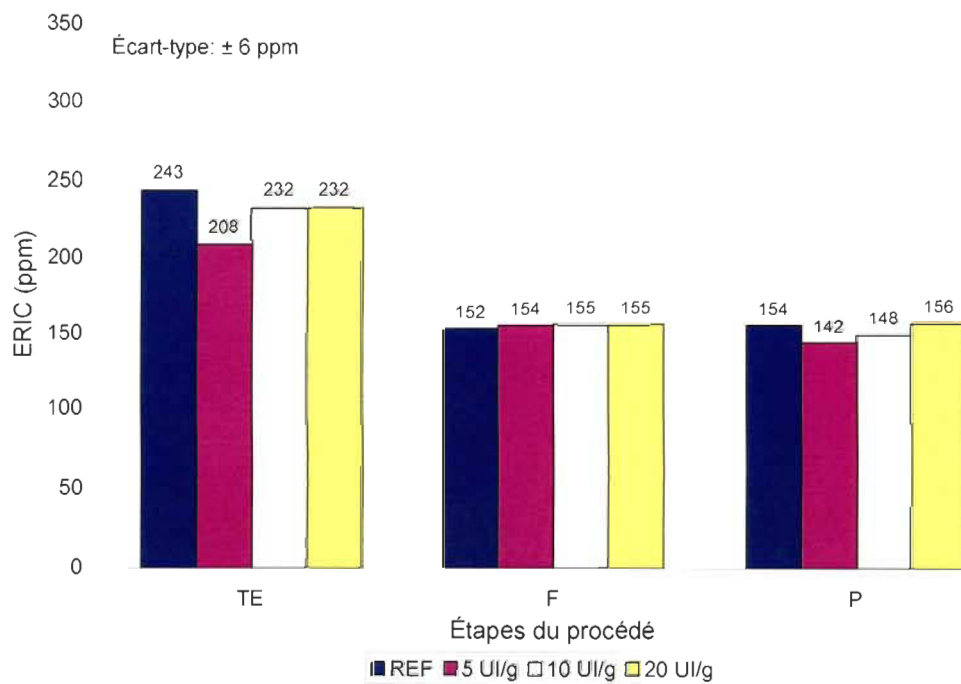
La même série d'expériences a été reprise avec une nouvelle pâte qui avait un pH de 8,0. Dans cette série d'essais, un gain de 0,7 %ISO de blancheur a été obtenu avec 5 UI/g de laccase, toutefois la quantité d'encre résiduelle effective finale n'a pas diminuée (Figures 6.5 et 6.6).

Lors des résultats présentés précédemment, la plus faible concentration de 5 UI/g de laccase permettait l'obtention de la meilleure amélioration de la blancheur. Nous avons vérifié si la diminution de cette concentration serait d'autant plus efficace.

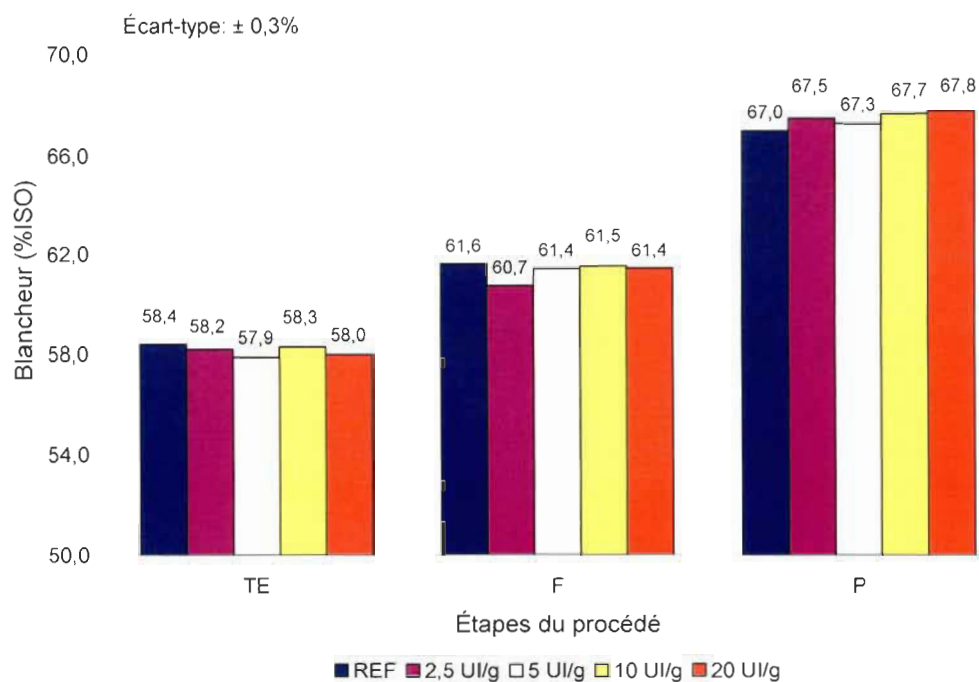
Une nouvelle série d'expériences a été réalisée sur une pâte ayant un pH de 6,2 avec un ajustement du pH à 7,5. Les concentrations 2,5, 5, 10 et 20 UI/g de pâte sèche de laccase ont été évaluées et les résultats de blancheur et d'ERIC sont présentés dans les figures 6.7 et 6.8.



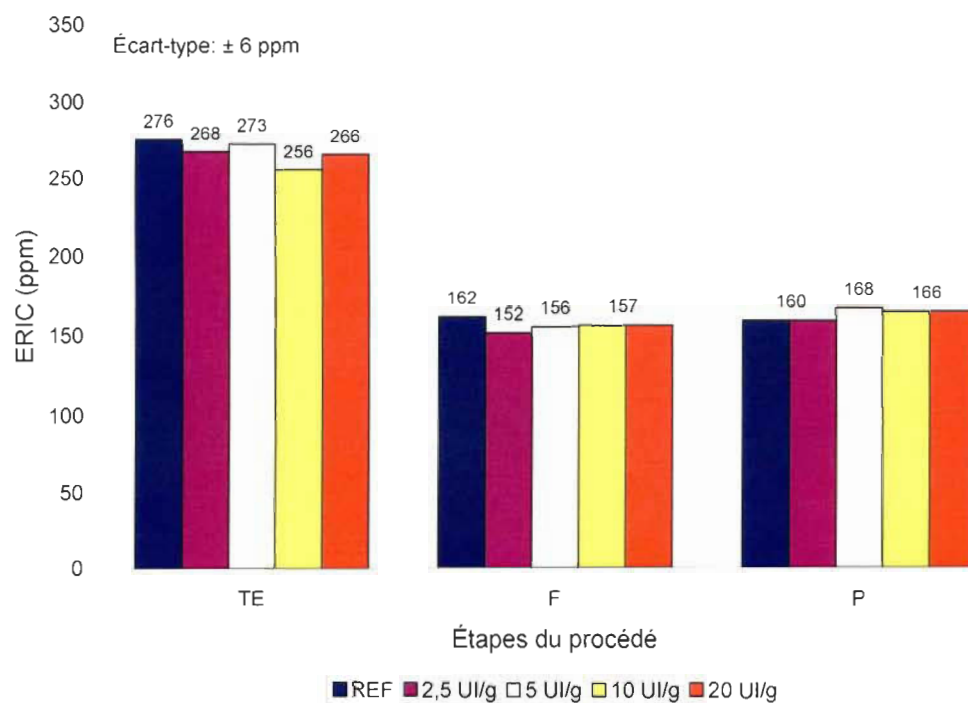
**FIGURE 6.5: Blancheur en fonction de la concentration de la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0)**



**FIGURE 6.6: ERIC en fonction de la concentration de la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0)**



**FIGURE 6.7: Blancheur en fonction de la concentration de la laccase avec ajustement de pH à 7,5 (pH de la pâte initial 6,2)**



**FIGURE 6.8: ERIC en fonction de la concentration de la laccase avec ajustement de pH à 7,5 (pH de la pâte initial à 6,2)**

Cette nouvelle pâte contenait plus d'encre (33 ppm) mais avait une blancheur plus élevée que la première. En comparant avec la référence, des gains de blancheur ont été observés pour les concentrations de laccase de 10 et 20 UI/g après l'étape du blanchiment. Cependant, au niveau de l'encre résiduelle effective, aucune diminution n'a été obtenue. Le meilleur gain a été de 0,8% pour la concentration 20 UI/g.

Afin de déterminer la concentration de médiateur optimale, nous avons choisi d'utiliser 5 UI/g de laccase, car des gains de blancheur ont été obtenus à pH 8 et que cela représente une concentration plus économique que 10 ou 20 UI/g.

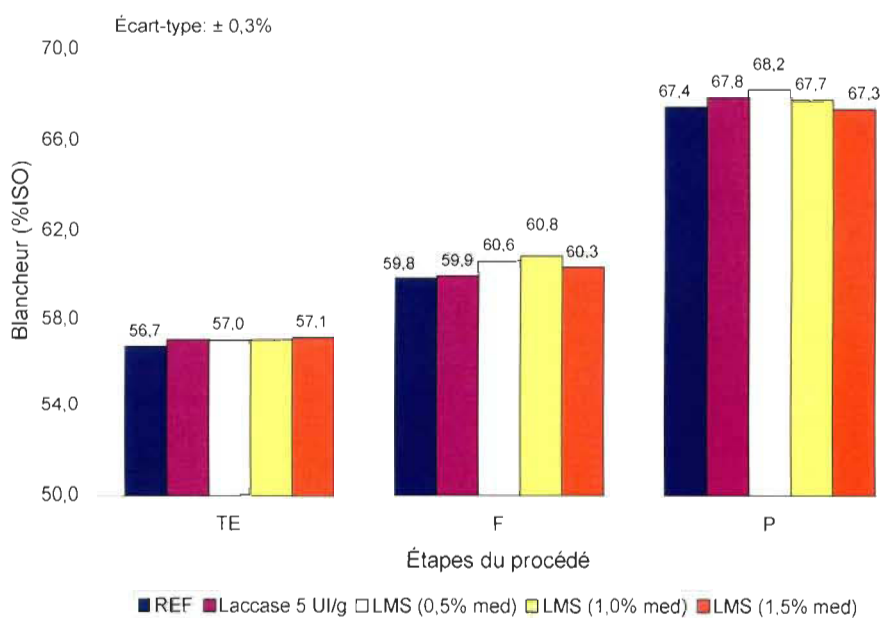
### **6.3 Effet de la concentration du médiateur**

L'ajout d'un médiateur avec la laccase permet de créer un LMS qui est plus efficace que la laccase seule pour blanchir les pâtes papetières (Knutson, 2004a). Lors de la revue de littérature, les concentrations de médiateur utilisées avec la laccase ont été répertoriées. Bien que le médiateur que nous avons utilisé n'est pas le même que ceux normalement retrouvés dans la littérature, nous nous sommes tout de même basés sur ces concentrations. La concentration de médiateur utilisée dans la littérature est de 1,0 % par gramme de pâte sèche (Garcia et al., 2003). Les concentrations de médiateurs qui ont été évaluées dans le cadre de notre projet sont 0,5, 1,0 et 1,5 %.

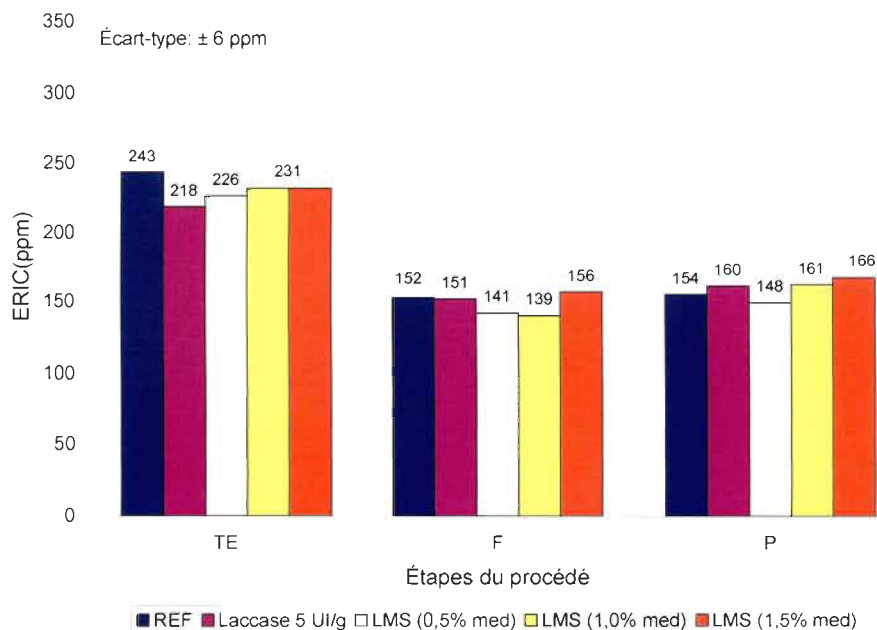
Dans un premier temps, les expériences ont été réalisées sans ajustement de pH avec une pâte ayant un pH de 8,0. Les résultats des propriétés optiques obtenues sont présentés dans les figures 6.9 et 6.10. L'ajout de 5 UI/g de laccase n'a pas permis d'amélioration de la blancheur ou de réduction de la valeur de ERIC. Le seul échantillon ayant démontré un gain de blancheur finale de 0,8%, est l'ajout de 0,5% de médiateur. De plus, aucune diminution de l'encre résiduelle finale n'a été observée. Pour l'ensemble des essais de cette série, contrairement à l'ajout de laccase seule, des gains de blancheurs sont

observés suite à l'étape de flottation. Le meilleur gain après la flottation a été obtenu pour l'échantillon LMS avec 1,0% de médiateur, mais ce gain n'a pas été conservé après le blanchiment.

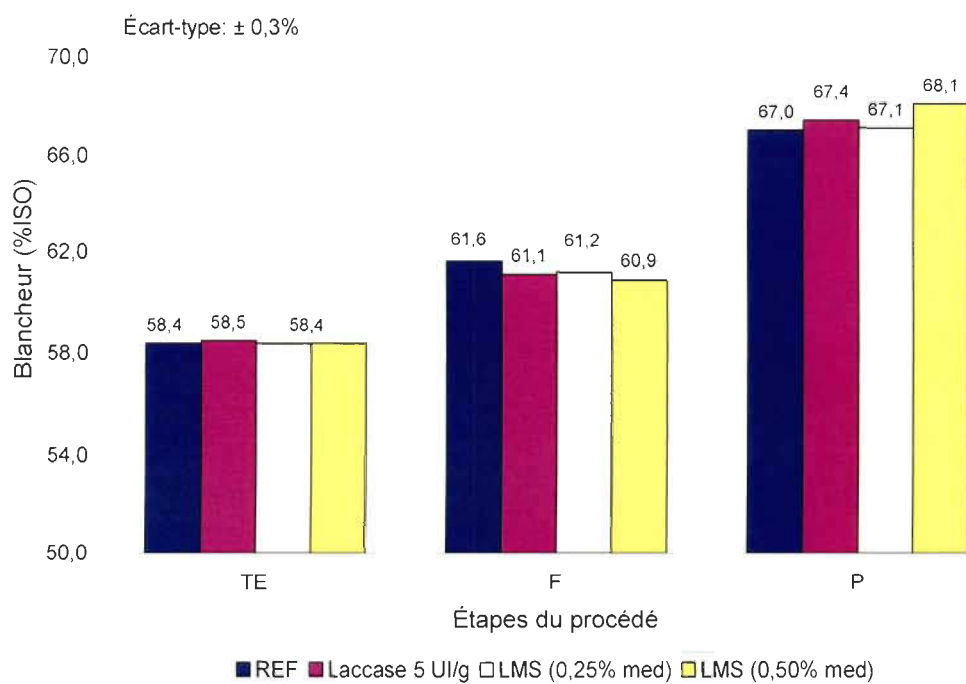
Dans un deuxième temps, les expériences ont été effectuées sans ajustement de pH sur une pâte ayant un pH de 6,2. L'échantillon de laccase seule n'a pas démontré une augmentation de blancheur significative par rapport à l'écart-type, cependant, un gain de 1,1 %ISO est observé lorsque 0,5 % de médiateur est ajouté avec la laccase en comparaison de la référence. Également, ces résultats démontrent que la diminution de la concentration du médiateur à 0,25 % est moins efficace que le LMS avec 0,5% de médiateur. Dans le cas des quantités d'encre résiduelles effectives, aucune diminution significative n'a été obtenue. (Figures 6.11 et 6.12)



**FIGURE 6.9: Blancheur en fonction de la concentration du médiateur avec la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0)**

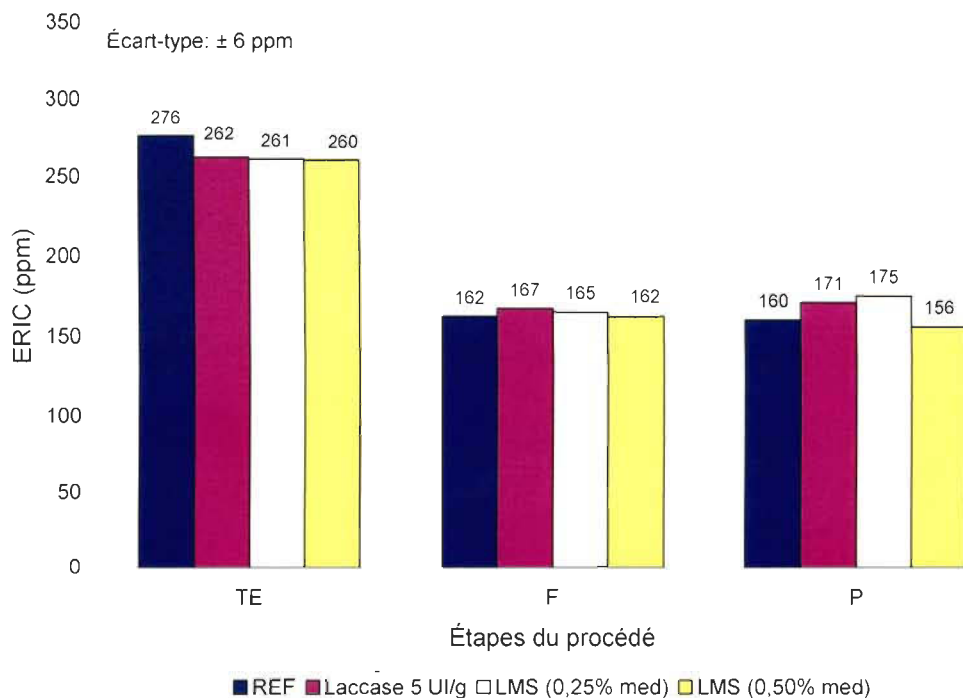


**FIGURE 6.10: ERIC en fonction de la concentration du médiateur avec la laccase sans ajustement de pH (pH de la pâte : 8,0)**



**FIGURE 6.11: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 5 UI/g de laccase et de deux concentrations de médiateur sur une pâte à pH 6,2**





**FIGURE 6.12: ERIC obtenus suite à l'ajout de 5UI/g de laccase et de deux concentrations de médiateur sur une pâte à pH 6,2**

#### 6.4 Effet du pH

L'ajout de laccase sur des pâtes à pH 8 a démontré un gain de 0,8 % ISO pour l'ajout de 5 UI/g de laccase et les expériences n'ayant pas eu d'ajustement de pH ont démontré une amélioration de 1,1 % ISO de la blancheur pour l'ajout de 5 UI/g et 0,5 % de médiateur. Dans cette section, nous discutons des séries d'essais avec l'ajout de 5 UI/g de laccase et 0,5% de médiateur pour 5 pH différents. Les expériences aux pH 5,8, 6,2, 8,0 ont été effectuées sans ajustement du pH de la pâte, par contre, les pH 7,5 et 8,5 ont été ajustés avec du NaOH 0,1M. Sur la figure 6.2, le pH optimal de la laccase avec la syringaldazine comme substrat est à 7,5. Cependant, il a été exposé que lors d'un changement du substrat l'activité enzymatique mesurée n'est pas adéquate. En effet, selon le tableau 6.2, on peut observer que le gain de blancheur maximal n'est pas au pH 7,5. Le gain de blancheur le plus important a été obtenu à pH 6,2 et la seule diminution de ERIC significative est pour le pH 5,8.

Un gain de blancheur supérieur à l'écart-type a également été obtenu à pH 8,0. Le fait que la laccase soit efficace à pH 6,2 et 8,0 mais pas à 7,5 est illogique. D'autant plus que dans le cas de la pâte qui a servi pour les expériences à pH 6,2 et 7,5, elle provenait du même échantillon de pâte, le seul changement est l'ajustement du pH avec du NaOH. On remarque qu'un résultat positif sont obtenus à une seule occasion lorsque les pH sont ajustés avec du NaOH à 0,1 M. Nous supposons que l'ajout d'ions  $\text{OH}^-$  nuit à l'activité de la laccase et se reflète sur les propriétés optiques.

Suite aux résultats obtenus aux différents pH, l'hypothèse exposée au chapitre précédent que l'activité enzymatique mesurée avec un substrat donné ne correspond pas à la même activité qu'avec de la pâte désencrée est également avec la laccase.

**TABLEAU 6.2: Variation des blancheurs et des ERIC pour l'ajout de 5 UI/g de laccase et 0,5% de médiateur pour différents pH**

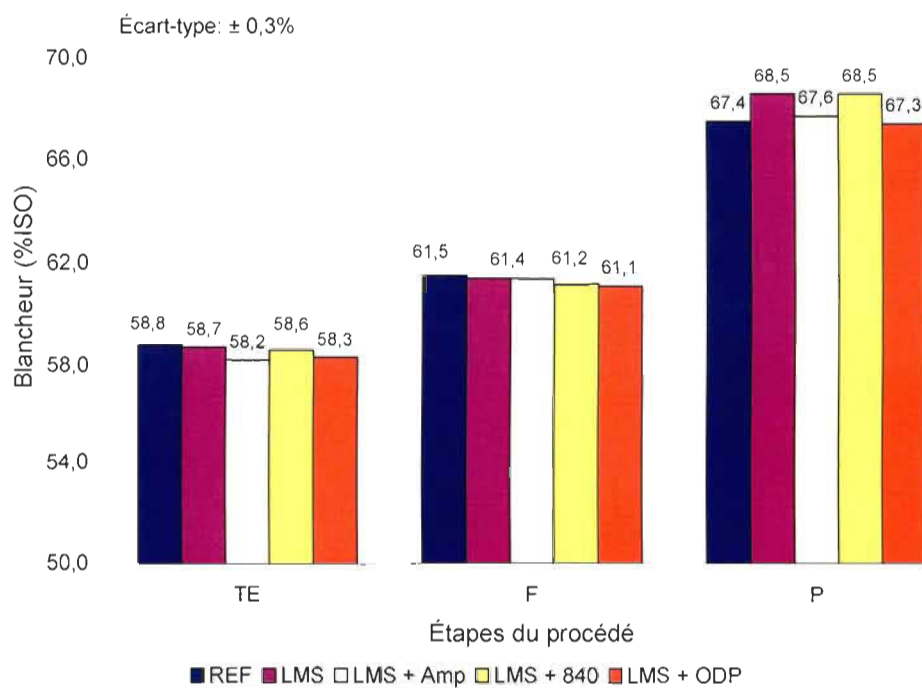
pH	Variation de la blancheur finale en comparaison des références ( $\pm 0,3\%$ ISO)	Variation de l'ERIC final en comparaison des références ( $\pm 6$ ppm)
5,8	0,1	-21
6,2	1,1	-4
7,5*	0,1	9
8,0	0,8	-6
8,5*	0,1	3

\* pH ajusté

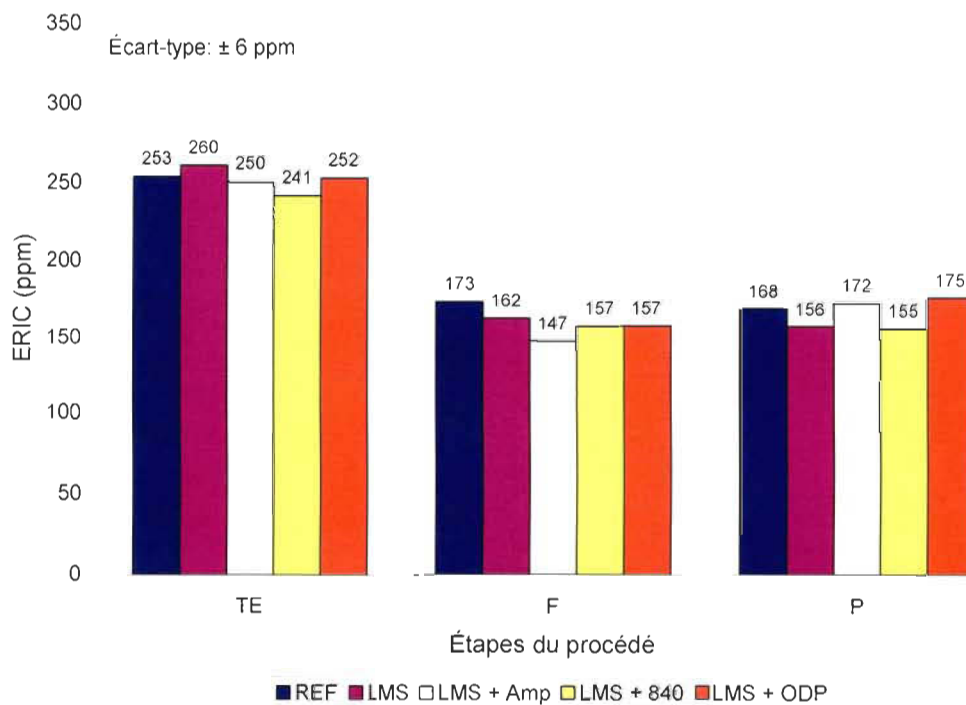
## 6.5 Effet de l'ajout de tensioactifs

### 6.5.1 Variation des tensioactifs

Les tensioactifs Amphosol 810B, Berol 840 et le Deteric ODP-LF ont été ajoutés à 5 UI/g de pâte de sèche de laccase et de 0,5% de médiateur dans l'étape du traitement enzymatique. Sur les figures 6.13 à 6.19, où les trois tensioactifs ont été expérimentés, on remarque qu'aucun tensioactif n'est plus efficace que l'autre.



**FIGURE 6.13: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,015 % d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF à 5UI/g au LMS (pH de la pâte : 6,2)**



**FIGURE 6.14: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,015 % d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF au LMS (pH de la pâte : 6,2)**

### 6.5.2 Variation de la concentration des tensioactifs

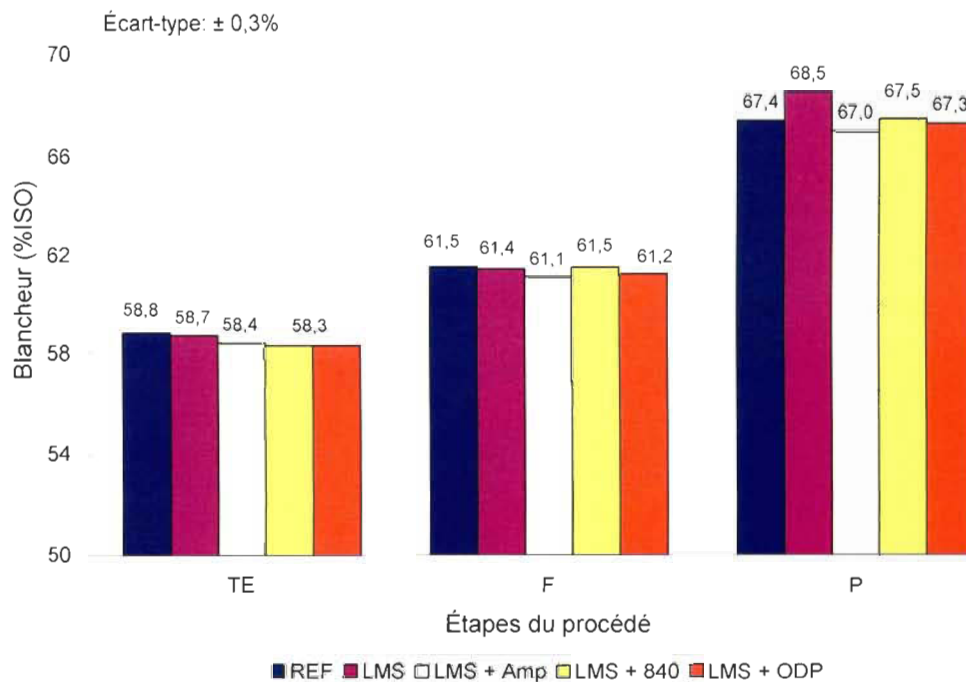
Tel que présenté dans la section d'optimisation de la lipase, les trois mêmes concentrations de tensioactifs ont été évaluées : 0,015 %, 0,010 % et 0,005 % par gramme de pâte sèche. Toutes les concentrations ont été évaluées sur une pâte à pH 6,1. Pour cette série d'expériences, l'ajout du LMS a démontré un gain de 1,1 %ISO, on peut affirmer que ce gain de blancheur est dû à l'oxydation des groupements chromophores de la lignine à l'étape du traitement enzymatique, ce qui a pour conséquence de favoriser l'action du  $H_2O_2$  (Knutson, 2004a).

Compte tenu qu'il n'y a aucun gain de blancheur après la flottation, cela nous permet de confirmer cette hypothèse, la concentration en encre résiduelle est demeurée inchangée. Avec l'ajout de 0,015 % de chacun des tensioactifs, nous observons un gain de 1,1 % ISO sur la blancheur finale pour l'ajout du Berol 840, mais ce résultat n'est pas plus élevé que le LMS seul. Aucun autre tensioactif n'a démontré d'amélioration de blancheur ou de diminution d'ERIC supérieur au LMS.

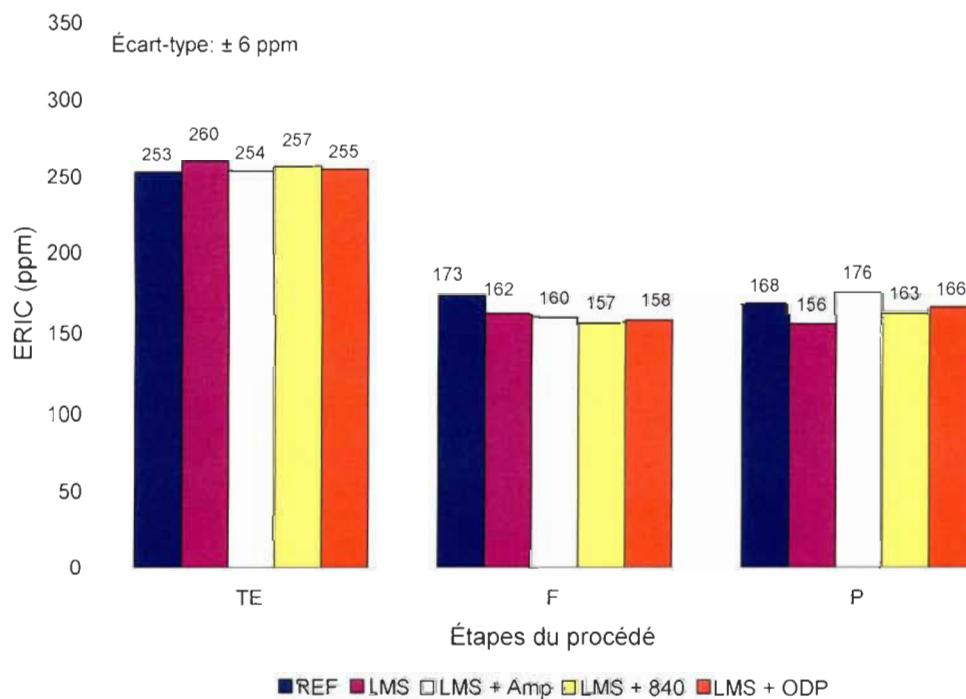
Pour l'ajout de 0,010 % et 0,005 % de chacun des tensioactifs, on ne remarque aucune amélioration des propriétés optiques supérieures à l'écart-type. Les figures 6.15 à 6.20 en représentent les résultats obtenus.

Puisque les résultats obtenus avec l'ajout de 0,015% du tensioactif Berol 840 étaient équivalents à ceux obtenus avec le LMS, nous avons reproduit l'essai sur une nouvelle pâte. Comme le Detric ODP-LF a été efficace avec la lipase, nous avons évalué ce dernier avec une concentration plus élevée de 0,02%. Ces expériences ont été réalisées avec une pâte à pH 6,2.

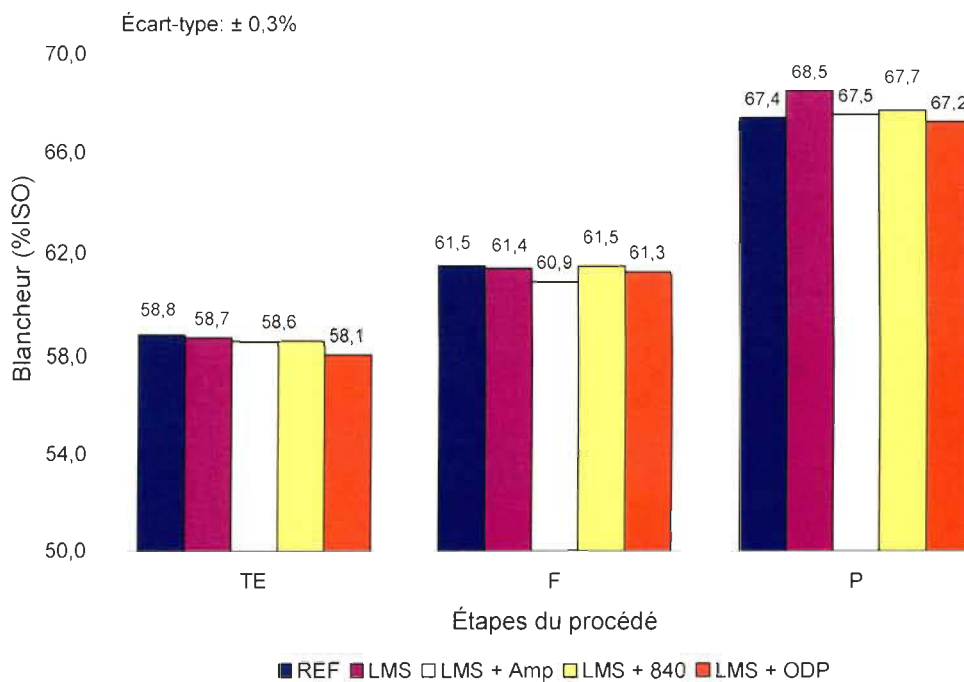
Contrairement à la figure 6.13 qui a été réalisée aussi à pH 6,2, mais sans ajustement de pH, il n'y a eu aucun gain de blancheur avec le LMS ou avec la laccase. Les diminutions d'encre résiduelle effective finale observée sont significatives pour tous les échantillons, mais cette diminution est très faible.



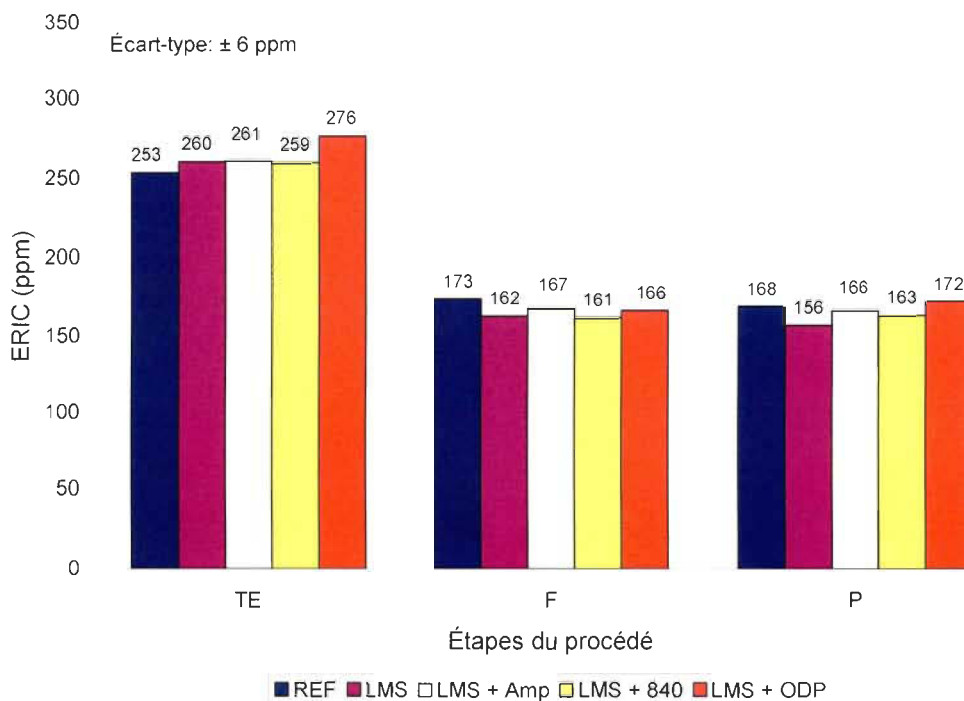
**FIGURE 6.15: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,010 % d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF au LMS (pH de la pâte : 6,2)**



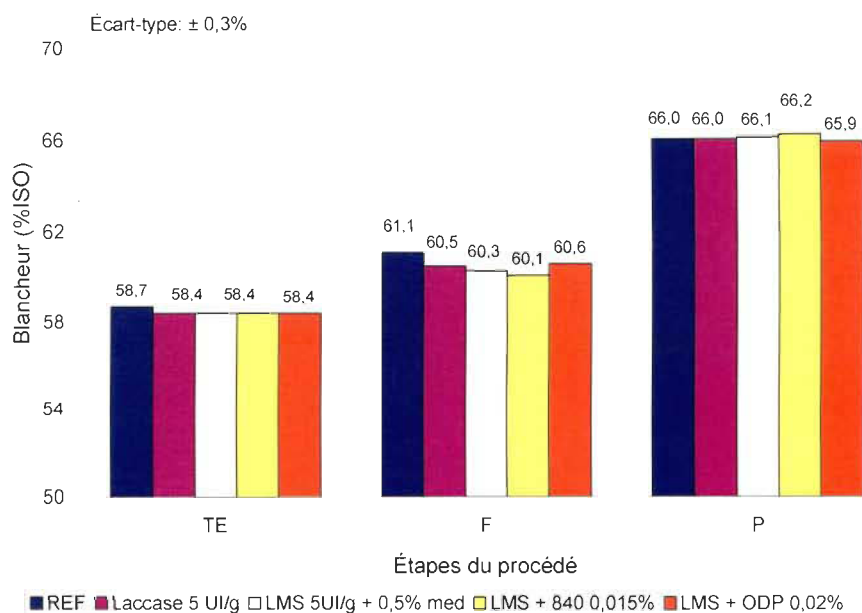
**FIGURE 6.16: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,010 % d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF au LMS (pH de la pâte : 6,2)**



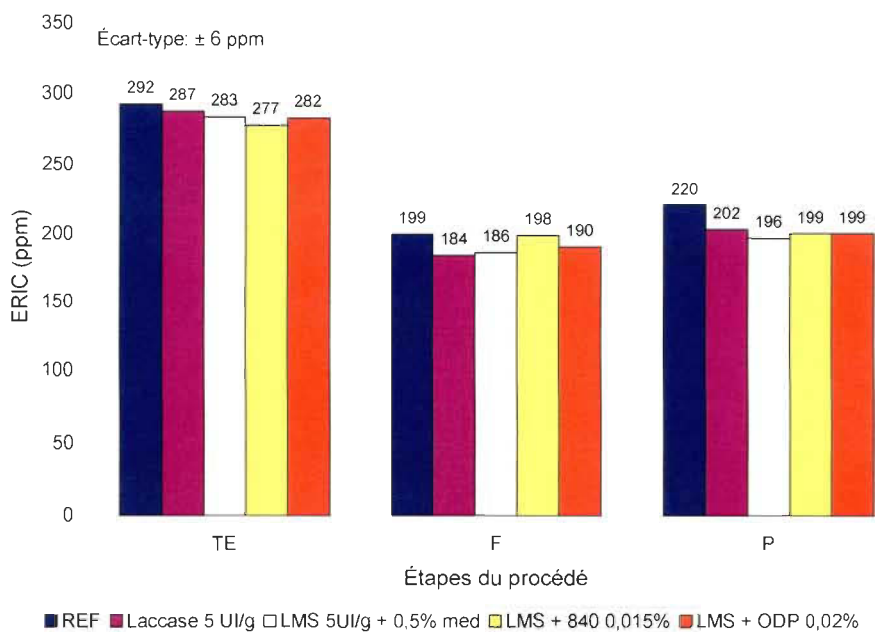
**FIGURE 6.17: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de 0,005 % d'Amphosol 810 B, Berol 840 et Deteric ODP-LF au LMS (pH de la pâte : 6,2)**



**FIGURE 6.18: ERIC obtenus suite à l'ajout de 0,005% d'Amphosol 810B, Berol 840 et Deteric ODP-LF au LMS (pH de la pâte : 6,2)**



**FIGURE 6.19: Blancheurs obtenues suite à l'ajout de différentes concentrations de tensioactifs au LMS sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2**



**FIGURE 6.20: ERIC obtenus suite à l'ajout de différentes concentrations de tensioactifs au LMS sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2**

## 6.6 Conditions préconisées

Les conditions optimales obtenues pour le LMS sont une concentration de 5 UI/g de laccase 0,5% de médiateur. Les résultats obtenus avec les trois tensioactifs à la section 6.5 montrent aucun de gain supplémentaire à ceux obtenus avec le LMS. Cependant, l'ajout de Berol 840 permet d'obtenir des résultats équivalents au LMS. Ces conditions serviront à la combinaison de la lipase avec le LMS.

## 6.7 Conclusion

Les résultats de la laccase individuelle ou en combinaison avec un médiateur a démontré de faibles améliorations de propriétés optiques. Le meilleur gain de blancheur obtenu pour ces essais est de 1,1 %ISO avec 5 UI/g de laccase, 0,5% de médiateur au pH 6,2 et l'action des tensioactifs n'a pas été plus efficace que le LMS. Nous n'avons pas observé de diminution d'encre résiduelle suite aux différents traitements sauf pour une série d'échantillon avec les tensioactifs. Nous supposons que la laccase transforme les groupements chromophores de la lignine et ne décroche pas l'encre de la fibre compte tenu que la laccase agit sur les chromophores de la lignine et non sur l'encre ou son véhicule. Le gain de blancheur suite à la flottation, mais surtout au blanchiment confirme cette hypothèse. Si le pouvoir oxydant de la laccase provient de la différence de potentiel redox et que ce dernier est augmenté avec la présence du médiateur, cela est confirme nos résultats. L'analyse des peroxydes résiduels effectuée après blanchiment sur tous les échantillons n'a rien démontré de concluant.

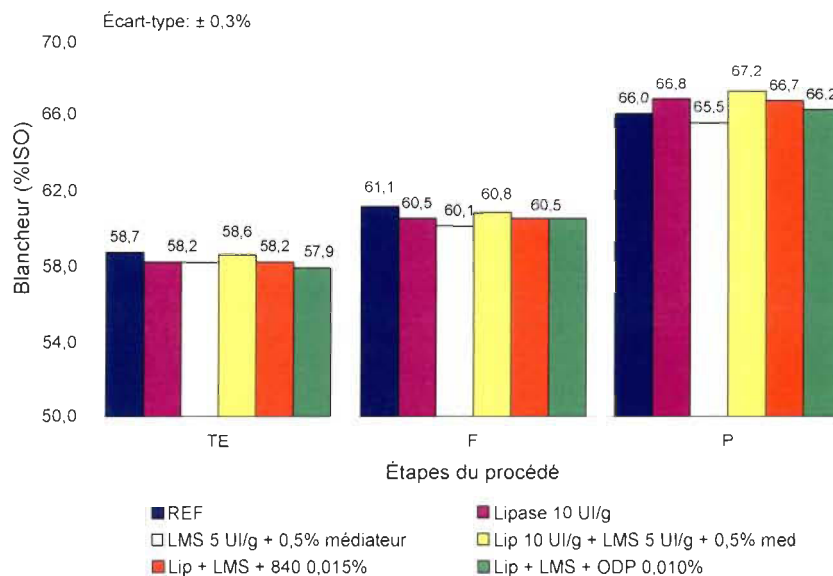


## CHAPITRE 7

### COMBINAISON DE LA LIPASE ET DU LMS

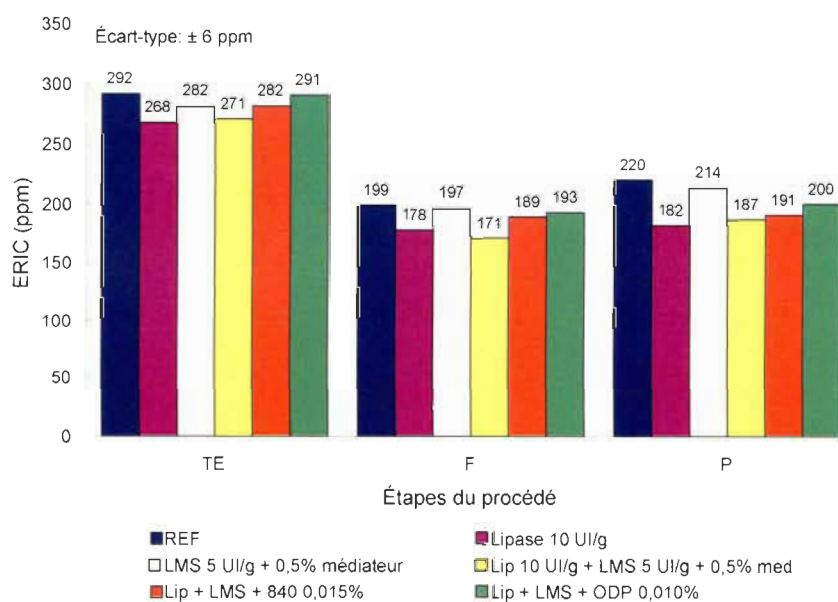
#### 7.1 Effet de la combinaison de la lipase et du LMS

L'un des objectifs de ce projet de maîtrise était de vérifier s'il existe un synergisme entre la lipase et la laccase. La combinaison de la lipase et du LMS a été effectuée à pH 6,2, car dans le cas des deux enzymes, des résultats positifs avaient été obtenus à ce pH. De plus, les expériences avec les tensioactifs avaient été réalisées à ce pH dans les deux cas et des résultats positifs en étaient ressortis pour la lipase. Pour cette série d'essais, la pâte qui a servi aux expériences avait un pH de 5,8 lors de sa réception et le pH a été ajusté à 6,2 avec du NaOH lors du traitement enzymatique. Dans un premier temps, nous avons vérifié l'effet de chacune des enzymes indépendamment sur cette pâte. Les résultats de l'ajout des enzymes seules et en combinaison sont présentés dans les figures 7.1 et 7.2.



**FIGURE 7.1:** Blancheurs obtenues par l'ajout de lipase et de LMS indépendamment, en combinaison et avec des tensioactifs sur une pâte de pH 5,8 ajusté à 6,2

En général, avec l'ajout de 10 UI/g de lipase, nos résultats montrent un gain de blancheur finale en comparaison de la référence d'environ un point ISO. Effectivement, un gain de 0,8 % ISO a été observé pour l'ajout de lipase. Par contre, dans le cas de l'ajout de laccase à 5 UI/g avec 0,5 % de médiateur, aucun gain n'a été observé. En ce qui concerne les quantités d'encre résiduelles finales, la diminution la plus importante a été observée pour la lipase seule avec 38 ppm, ce qui correspond aux résultats obtenus au chapitre 5. Des diminutions d'encre ont été observées pour tous les échantillons à l'exception du LMS.



**FIGURE 7.2: ERIC obtenus par l'ajout de lipase et de LMS indépendamment, en combinaison et avec des tensioactifs sur une pâte de PH 5,8 ajusté à 6,2**

La combinaison de lipase et du LMS a montré un gain de blancheur finale de 1,2 %ISO. Cependant, ce gain n'est pas significativement plus élevé que celui de la lipase seule. La définition de synergisme mentionne que si l'effet de la combinaison est supérieur à ce que l'on obtient par la somme des deux parties, on observerait un synergisme entre les deux enzymes. Cependant, puisqu'il n'y a pas de gain de blancheur significatif et qu'il n'y a pas eu de diminution de la concentration d'encre résiduelle effective finale de la

combinaison des enzymes en comparaison de la valeur obtenue avec la lipase, alors il n'y a pas de synergisme.

## **7.2 Effet de la combinaison de la lipase, du LMS et d'un tensioactif**

Dans notre seconde série d'essais, un tensioactif a été ajouté à la combinaison de lipase et de LMS, les résultats de blancheur et d'ERIC sont présentés dans les figures 7.1 et 7.2. Le Berol 840 et le Deteric ODP-LF (0,015% et 0,001%) ont été ajoutés à la combinaison d'enzymes afin d'évaluer leur efficacité à améliorer les propriétés optiques. Dans les deux cas, les blancheurs finales n'ont pas été supérieures à celles obtenues par la combinaison de lipase et de LMS mais également de la lipase seule. En ce qui concerne de l'encre résiduelle, les résultats sont similaires à la blancheur. L'ajout d'un tensioactif nuit aux propriétés optiques et cela pourrait être dû au type de tensioactifs choisi.

## **7.3 Conclusion**

Nous pouvons conclure qu'il n'existe aucun synergisme entre la lipase et le LMS. Le gain de blancheur observé au cours de ces expériences est seulement dû à la lipase. L'ajout d'un tensioactif ne permet aucun résultat positif.

## CHAPITRE 8

### CONCLUSION

Les enzymes lipase et laccase utilisées dans les conditions de cette étude ne démontrent pas de résultats susceptibles d'être utilisée en industrie. En effet, les coûts supplémentaires que représentent la ou les enzymes et les trois étapes supplémentaires sont un investissement monétaire non rentable pour l'industrie. Par contre, nous pouvons supposer que l'utilisation de ces enzymes directement dans le procédé de désencrage conventionnel ou comme prétraitement à celui-ci pourrait être plus efficace et moins coûteuse. En effet, le pouvoir de décrochage de l'encre pour la lipase serait utile dans l'étape de trituration. Suite aux résultats obtenus pour la lipase et le LMS respectivement, nous pouvons conclure que la lipase est une enzyme plus tolérante que la laccase, notamment en termes de pH d'utilisation.

Dans le chapitre d'optimisation de la lipase, nous avons démontré que l'hydrolyse des triglycérides permettait de libérer des particules d'encre qui étaient retirées lors de la flottation (Morkbak, 1999). L'enlèvement de ses particules suite à la flottation favorisait l'action du  $H_2O_2$  lors de la dernière étape, ce qui confirme notre hypothèse de départ.

Pour la laccase, aucune diminution d'encre résiduelle n'a été observée, car contrairement à notre hypothèse de départ, la laccase ne décroche pas l'encre de la lignine, mais elle oxyde les groupements chromophores de la lignine ou les groupements phénoliques de l'encre. Des gains de blancheur sont obtenus suite à la flottation, mais sont plus perceptible suite au blanchiment. L'oxydation même partielle de l'encre ou des groupements chromophores dans le traitement enzymatique permettent l'augmentation de la blancheur puisque ces oxydations sont amplifiées lors de l'étape du blanchiment au  $H_2O_2$ .

Pour expliquer la très faible efficacité de la laccase, nous avons retenues certaines hypothèses. La première est un manque d'oxygène dans le sac puisque ce dernier était scellé et qu'il n'y avait aucune entrée d'air pendant les trois heures de rétention du traitement enzymatique. La seconde est comme dans le blanchiment des pâtes krafts avec la laccase, de l'oxygène pressurisé est ajouté pour aider l'action de l'enzyme (Bourbonnais, 1996). Cet ajout d'oxygène pressurisé aurait pu être bénéfique dans notre étude même s'il s'agit d'une pâte mécanique. De plus, nous avons observé que les résultats étaient négatifs lorsque les échantillons subissaient un ajustement de pH avec le NaOH, cela pourrait être dû aux ions  $\text{OH}^-$  qui inhibent l'activité de la laccase. Selon Grönqvist en 2003, l'efficacité de la laccase est supérieure sur les fines que les fibres. De plus, la qualité des fibres après blanchiment pourrait affecter l'activité de la laccase si ces dernières sont endommagées. Comme la portion de fines des pâtes utilisées dans l'étude n'a pas été mesurée et nous ne connaissons pas la qualité des fibres de chacune des pâtes, nous ne pouvions savoir si le contenu en fines ou si la qualité des fibres était suffisante pour obtenir une activité de la laccase adéquate. En dernière hypothèse, il se peut que le médiateur ne fût pas adapté pour ce type de pâte.

La mesure de l'activité enzymatique au cœur du traitement aurait permis de connaître s'il y avait un composé qui affectait l'activité. Aussi, la température aurait pu être variée dans le cas des deux enzymes car cela aurait pu favoriser l'activité enzymatique. De plus, pour les expériences avec la laccase, nous aurions pu mesurer la quantité de lignine de Klason avant et après le traitement afin de savoir s'il y avait une diminution dans son contenu suite à l'action de l'enzyme.

## BIBLIOGRAPHIE

Balakshin, M., Capanema, E., Chen, C. L., Gratzl, J., Kirkman, A., Gracz, H. (2001) "Biobleaching of pulp with dioxygen in the laccase-mediator system: reaction mechanisms for degradation of residual lignin", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 13(1-3): 1-16.

Bailey, J. (1998) "Biotechnology supports the industry's effort for better processes", *Pulp and Paper Canada* 99(10): 9-10, 12, 14.

Beg, Q. K., Kapoor, M., Mahajan, L. Hoondal, G. S. (2001) "Microbial xylanases and their industrial applications: a review", *Applied Microbiology Biotechnology* 56(3/4): 326-338.

Blanco, A., Negro, C., Borch, K., Minning, S., Hannuksela, T. Holmbom, B. (2005) "Pitch control in thermomechanical pulping and papermaking by enzymatic treatments", *Appita Journal* 58(5): 358-361.

Bourbonnais, R. P., M. G. (1996) "Enzymatic Delignification of Kraft Pulp Using Laccase and a Mediator", *Tappi Journal* 79(6): 199-204.

Borchardt, J. K. (1997) "An introduction to deinking chemistry", M. R. D. e. J. M. Dyer (ed.), *Paper recycling challenge*, volume II pp. 18-30.

Camarero, S. I., D., Martinez, M. J., Martinez, A. T. (2005) "Lignin-derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of recalcitrant dyes", *Applied and Environmental Microbiology* 71(4): 1775-1784.

Camarero, S., Ibarra, D., Martinez, A. T., Romero, J., Gutierrez, A. Del Rio, J. C. (2007) "Paper pulp delignification using laccase and natural mediators", *Enzyme Microbial Technology* 40(5): 1264-1271.

Coulombe, G., Huot, J., Arsenault, J., Bause, É., Bernard, J.-T., Bouchard, A., Liboiron, M. A., Szaraz, G (2005) "Rapport de la Commission d'étude sur la gestion de la forêt publique québécoise."  
<http://www.commission-foret/rapportfinal.html>

Da Silva, K. (2004) "Approche thermodynamique et cinétique de l'extraction à deux phases aqueuses à l'aide de tensioactifs non ioniques", *Génie des procédés et environnement*, Brésil.

Dixon, M., Webb, Edwin. (1979) "Enzymes", New York : Academic Press. pp 950.

Eriksson, T., Borjesson, J., Tjerneld, F. (2002) "Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose", *Enzyme Microbial Technology* 31(3): 353-364.

Galland, G., Carre, B., Fabry, B. Saint Amand, J. (2006) "Recent research contributions to deinking technology and next challenges", *Atip* 60(5): 6-20.

Garcia, O., Camarero, S., Colom, J. F., Martinez, A. T., Martinez, M. J., Monje, R. Vidal, T. (2003) "Optimization of a laccase-mediator stage for TCF bleaching of flax pulp", *Holzforschung* 57(5): 513-519.

Geng, X., Kaichang Li, Irina A. Kataeva, Xin-Liang L., Lars G.L (2003) "Effets of two Cellobiohydrolases, CbhA and CelK, from *Clostridium thermocellum* on Deinking of Recycled Mixed Office Paper", *Progress in Paper Recycling* 12(3): 6-10.

Gronqvist, S., Buchert, J., Rantanen, K., Viikari, L., Suurnakki, A. (2003) "Activity of laccase on unbleached and bleached thermomechanical pulp", *Enzyme Microbial Technology* 32(3-4): 439-445.

Kenealy, W. R., Jeffries, Thomas W. (2003) "Enzyme processes for pulp and paper : a review of recent developments", Oxford University Press (ed.), *Wood deterioration and preservation : advances in our changing world*, pp. Pages 210-239.

Kim, T. J., Ow, S. S. K., Eom, T. J. (1991) "Enzymatic Deinking Method of Waste Paper." *TAPPI Pulping Conf.*: 1023-1030

Kirk, T. K., Thomas W. Jeffries (1996) "Roles for Microbial Enzymes" *Pulp and Paper Processing*, American Chemical Society 655: 1-14.

Knutson, K., Arthur Ragauskas (2004a) "Laccase-Mediator Biobleaching Applied to a Direct Yellow Dyed Paper", *Biotechnology Progress* 20: 1893-1896.

Knutson, K. (2004b) "Enzymatic biobleaching of recalcitrant paper dyes", *Institute of Paper Science and Technology, Georgia Institute of technology*, pp134.

Lee, C. K., I. Darah, C.O. Ibrahim (2007) "Enzymatic deinking of laser printed office waste papers: Some governing parameters on deinking efficiency", *Bioresource Technology* 98: 1684-1689.

Lévesque, M. (1999) "Le recyclage et le désencrage des papiers et cartons", Montréal: Cégep de Trois-Rivières, pp 392

Lorrain, M. (1998) "Désencrage enzymatique du papier journal offset et du papier à impression xérographique", *Maîtrise en Science des pâtes et papiers, Université du Québec à Trois-Rivières*. pp 72.

Manole, A. H., D. Chiriac, H. Melnig, V. (2008) "Laccase activity determination", *Analele stiintifice universitatii* 4: 17-24.

Mansfield, S. D. (2002) "Laccase impregnation during mechanical pulp processing: improved refining efficiency and sheet strength", *Appita Journal* 55(1): 49-53.

Massoutier, S., Olivier., Pollack (2001) "Le désencrage des encres et vernis UV", <http://cerig.efpg.inpg.fr/memoire/2000/desencrage-UV.htm>

Moerkbak, A. L., Zimmermann, W. (1998) "Applications of enzymes in paper deinking processes", E. K.-E. L (ed.), *Enzyme applications in fiber processing*. Washington, DC. pp 340.

Moerkbak, A. L., P. Degn, W. Zimmermann (1999) "Deinking of soy bean oil based ink printed paper with lipases and a neutral surfactant", *Journal of Biotechnology* 67: 229-236.

Paice, M. G., Bourbonnais, R., Reid, I. D. (1995) "Bleaching Kraft Pulps with Oxidative Enzymes and Alkaline Hydrogen Peroxide", *Tappi Journal* 78(9): 161-169.

Pala, H., Mota, M., Gama, F.M. (2004) "Enzymatic versus chemical deinking of non-impact ink printed paper", *Journal of Biotechnology* 108: 79-89.

Phan, A.-T. (2004) "Efficacité des générateurs de peroxyde dans le blanchiment de la pâte désencrée", *Maîtrise en science des pâtes et papiers*, Université du Québec à Trois-Rivières. pp. 76.

Rousselle, A. M., Bertoniere, N. R., Howley, P. S., Goynes, W. R., Jr. (2002) "Effect of whole cellulase on the supramolecular structure of cotton cellulose", *Textile Research Journal* 72(11): 963-972.

Semedo, L., Gomes, R. C., Bon, E. P. S., Soares, R. M. A., Linhares, L. F., Coelho, R. R. R. (2000) "Endocellulase and exocellulase activities of two streptomyces strains isolated from a forest soil", *Applied biochemistry and biotechnology* 84-86: 267-276.

Spiridon, I., Belgacem, M. N. (2004) "Enzymatic deinking of laser printed papers", *Progress in Paper Recycling* 13(4): 12-15.

Spiridon, I., A. M. Andrade (2005) "Enzymatic deinking of old newspaper (ONP)", *Progress in Paper Recycling* 14(3): 14-18.

Sykes, M., Klungness, J., Gleisner, R., Abubakr, S. (1998) "Stickie removal using neutral enzymatic repulping and pressure screening", *Recycling Symposium*, New Orleans, LA, USA, pp 291-296

Taylor, C. A., John. Hill, Geoffrey. Lapierre, Luc. Dorris, Gilles. Merza, Jim. Daniel Haynes, R. (2004) "A 10-day mill trial of near-neutral sulphite deinking. Part I: Deinked pulp optical and physical properties", *Pulp and Paper Canada* 107(5): 205-211.



Valls, C., Roncero, M. Blanca (2009) "Using both xylanase and laccase enzymes for pulp bleaching", *BioResource Technology* 100(6): 2032-2039.

Vyas Santosh, A. L. (2003) "Biodeinking of mixed office waste paper by alkaline active cellulases from alkalotolerant *Fusarium* sp.", *Enzyme and Microbial Technology* 32: 236-245.

Walker, L. P., Wilson, D. B. (1991) "Enzymatic hydrolysis of cellulose: An overview", *BioResource Technology* 36(1): 3-14.

Welt , T., R.J. Dinus (1994) "Enzymatic deinking - A review", *Progress in Paper Recycling*. pp 34.

Widsten. P. et Kandelbauer, A. (2008) "Laccase applications in the forest products industry: A review", *Enzyme and Microbial Technology* 42(4): 293-307.

Wolfgang, A. (2004) "Enzymes in Industry, Production and Application" Wiley-vch. pp 396.

Xu, Q., Menghua. Qin, Shulan. Shi , Liqiang. Jin , Yingjuan. Fua (2006) "Structural changes in lignin during the deinking of old newsprint with laccase–violuric acid system", *Enzyme and Microbial Technology* 39: 969-975.

Xu, Q., Yingjuan Fu, Yang Gao, Menghua Qin (2008) "Deinking of Old Newsprint by Cellulase/Hemicellulase combining with Laccase-Mediator System", 94e Congrès Annuel, Association technique des pâtes et papiers du Canada, Montréal pp. A63-A66.

Xu, Q., Fu, Y., Gao, Y., Qin, M. (2009) "Performance and efficiency of old newspaper deinking by combining cellulase/hemicellulase with laccase-violuric acid system", *Waste Management* 29(5): 1486-1490.

Ye, H. (2004) "Efficacité du blanchiment au peroxyde et au percarbonate des pâtes mécaniques - Impact sur l'environnement", Université du Québec à Trois-Rivières. pp.89

Yong Ruy, J. B. K. S., Jae Kwang Song (2008) "Application of lipase to reduce ONP flotation rejects. Part 2. Reduction of flotation rejects", *Tappi Journal* August: 3-7.

Zhang, X. (2000) "The effects of white-water dissolved and colloidal fractions on paper properties and effects of various enzyme treatments on the removal of organic components", *Pulp and Paper Canada* 101(3): 59-62.

Zhang, X., Renaud, S., Paice, M. (2005) "The potential of laccase to remove extractives present in pulp and white water from TMP newsprint mills", *Journal of Pulp and Paper Science* 31(4): 175-180.

Zhang, X., Renaud, S., Paice, M. (2008) "Cellulase deinking of fresh and aged recycled newsprint/magazines (ONP/OMG)", *Enzyme and Microbial Technology* 43(2): 103-108.